

Année 1964.

N° U. 395

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

*pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Paris
(Mention Pharmacie)*

par

Xavier PASCAUD

Présentée et soutenue publiquement le :

RECHERCHES SUR L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLEASIQUE NEUTRE CHEZ LA SOURIS ISOGENIQUE (Etude Génétique et Biochimique)

Travail de l'Unité de Biochimie et Enzymologie
de l'Institut GUSTAVE-ROUSSY - VILLEJUIF

Jury : MM. TRUHAUT
COURTOIS
PAOLETTI

Président.
Professeur.
Maître de Conférences.

Année 1964.

N° U. 395

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

*pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Paris
(Mention Pharmacie)*

par

Xavier PASCAUD

Présentée et soutenue publiquement le :

RECHERCHES SUR L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLEASIQUE NEUTRE CHEZ LA SOURIS ISOGENIQUE (Etude Génétique et Biochimique)

Travail de l'Unité de Biochimie et Enzymologie
de l'Institut GUSTAVE-ROUSSY - VILLEJUIF

Jury : MM. TRUHAUT
COURTOIS
PAOLETTI

Président.
Professeur.
Maître de Conférences.



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM.	G. VALETTE, O. *, C. U....	<i>Doyen</i>
	M. M. JANOT, O. *, C. U...	<i>Assesseur</i>
	P. MALANGEAU, O. U.....	<i>Assesseur</i>
	L. RODINEAU, *, O. U.....	<i>Secrétaire Général</i>
Mme	S. FERRARI, U.....	<i>Attachée Principale</i>
MM.	L. JEANDEL, O. U.....	<i>Attaché</i>
Mme	C. PEILLON.....	<i>Attachée</i>
Mle	G. BIDEAU.....	<i>Secrétaire</i>
Mme	S. CERTAIN, U. U.	<i>Secrétaire</i>
	M. COUSIN.....	<i>Secrétaire</i>
MM	A. DROUILLY, O. U.....	<i>Secrétaire</i>
Mme	M. L. ESPINASSE, O. U.....	<i>Secrétaire</i>
Mle	A.M. FAVERJON.....	<i>Secrétaire</i>
MM.	G. FROISSART, O. U.....	<i>Secrétaire</i>
Mme	L. WARNESSON.....	<i>Secrétaire</i>

DOYEN HONORAIRE

M.	R. FABRE, C. *, C. U....	<i>Membre de l'Institut</i>
----	--------------------------	-----------------------------

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.	M. DELEPINE, C. *, C. U..	<i>Membre de l'Institut</i>
	L. LAUNOY, O. *, C. U..	
	P. FLEURY, O. *, O. U.	
	M. MASCRE, O. *, C. U.	
	M. PICON, O. *, O. U.	
	C. BEDEL, *, O. U.	
	R. FABRE, C. *, C. U....	<i>Membre de l'Institut</i>

PROFESSEURS

MM. M. M. JANOT, O. *, C. (1)
 G. VALETTE, O. *, C. (1)..
 R. PARIS, *, O. (1).....

M. GUILLOT, *, O. (1)

J.A. GAUTIER, O. *, O. (1)

Mlle S. LAMBIN, *, O. (1)

MM. Y. RAOUL, *, O. (1)

J. COURTOIS, *, O. (1)....

L. DOMANGE, *, O. (1).....

P. CRETE, *, O. (1).....

R. TRUHAUT O. *, O. (1)...

A. MORETTE *, O. (1).....

R. CAVIER, O. (1).....

A. QUEVAUVILLER, *, O. (1)

R. MOREAU, *, O. (1)

MM. J. GUY, O. (1)

A. GERMAN, O. (1)

M. PIETTE, *, O. (1).....

P. MALANGEAU, O. (1)

M. GIRARD, O. (1)

G. DILLEMANN,.....

G. DEYSSON, O. (1).....

J. FLAHAUT, (1)

A. LE HIR.....

J. RENAULT, (1).....

C. BOUDENE,.....

P. LARUELLE.....

P. ROSSIGNOL.....

A. MANGEOT, (1).....

P. DELAVEAU,.....

Pharmacie galénique T.
 Pharmacodynamie T.
 Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale T.
 Physique T.
 Chimie organique T.
 Microbiologie T.
 Physiologie T.
 Chimie biologique T.
 Chimie minérale T.
 Botanique T.
 Toxicologie et Hygiène industrielle T.
 Hydrologie T.
 Parasitologie T.
 Hygiène et Education sanitaire T.
 Pharmacie chimique T.
 Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques T.
 Virologie et Sérologie T.
 Biologie sanguine T.
 Chimie analytique T.
 Chimie appliquée à l'expertise T.
 Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie T.
 Cytologie végétale T.
 Minéralogie T.
 Pharmacie Galénique
 Chimie organique
 Toxicologie et Hygiène industrielle
 Physique
 Pharmacodynamie
 Pharmacie Galénique industrielle T.
 Matière Médicale

MAITRES DE CONFERENCES

MM. R. BOURDON,.....

Mlle Y. COHEN,.....

G. LE MOAN,.....

H. RENAULT, O. (1)

C. PAOLETTI,.....

P. REYNAUD,.....

J. POISSON,.....

A. DESVIGNES, (1).....

F. PERCHERON,.....

J. SAVEL,.....

J. BORY,.....

Chimie analytique

Sciences naturelles
 Sciences appliquées
 Pharmacie chimique
 Sciences appliquées
 Sciences physico-chimiques
 Sciences naturelles
 Cryptogamie et technique bactériologique
 Sciences appliquées
 Biologie animale
 Sciences naturelles

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	P. BINET,.....	Parasitologie
	A. CARLIER (FF),.....	Pharmacie galénique industrielle
	A. CAVE,	Pharmacotechnie
	P. CORRIEZ, (I). U.....	Physique
	C. DREUX (FF),.....	Electrochimie appliquée à l'analyse
	P. GESTEAU,*, O. U.....	Physique biologique
	J.C. GOUNELLE,	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (Section Biologie)
	H. GUERIN,*, O. U.....	Micrographie (3e année), essais des drogues végétales
	J. HARISPE, O. U.....	Chimie générale et pharmaceutique
	J. HENRY,.....	Chimie (4e année)
Mme	J. HUBERT,.....	Microbiologie
Mlle	Y. JUND (FF),.....	Microbiologie
Mme	N. LEGER (FF),.....	Parasitologie
MM.	R. LELUC,.....	Microbiologie
	A. LEMONNIER,.....	Chimie analytique (2e et 3e années)
Mlle	M. LOISEAU (FF),.....	Chimie (4e année)
	S. LONGUEVALLE, ...	Service des examens de chimie
MM.	J. MANDEREAU (FF),.....	Pharmacotechnie
Mlle	H. MORIN, O. U.....	Pharmacodynamie
MM.	NGUYEN PHU LICH (FF),.....	Toxicologie
	F. PELLERIN,.....	Chimie analytique (2e & 3e année)
	R. PERLES,.....	Chimie biologique
	P. POUILLAIN,.....	Hématologie
Mme	M. ROBERT,.....	Sérologie
Mlle	A. ROLLEN, *, O. U.....	Biologie végétale
Mme	N. SALES (FF),.....	Biologie animale
Mlle	L. SEGUIN (FF), O. U.....	Analyse appliquée au contrôle des médicaments (section physico-chimie)
Mme	M. SEILLER (FF),.....	Pharmacie galénique industrielle
MM.	J. YONGER (FF),.....	Chimie analytique (1e année)

BIBLIOTHEQUE

Mlle	Y. RUYSSSEN, *, O. U.....	Conservateur, chargé de la Direction
Mlle	S. LAVAUD,*, O. U.....	Conservateur
Mme	G. KREHMER, (I). U.....	Conservateur
Mme	A. DESGRIPPES, (I). U.....	Bibliothécaire

A mon Père et à ma Mère,

En témoignage de ma reconnaissance
et de ma profonde affection.

A mes Frères,

A ma Famille,

A mes Amis.

A Monsieur le Professeur TRUHAUT,

- Professeur de Toxicologie et d'Hygiène Industrielle à la Faculté de Pharmacie de Paris,
- Pharmacien en chef des Hôpitaux Psychiatriques de la Seine.
- Directeur de l'Unité de Chimiothérapie de l'Institut Gustave Roussy.
- Officier de la Légion d'Honneur.

Qui nous a fait le grand honneur de diriger notre travail. Maître incomparable dont l'enseignement est universellement recherché, il a su nous faire bénéficier, avec une constante bienveillance, de ses précieux conseils et de sa haute compétence tant en Toxicologie qu'en Cancérologie.

Nous le prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre respectueux dévouement.

A Monsieur le Professeur J. E. COURTOIS

- Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris.
- Pharmacien des Hôpitaux de Paris.
- Chevalier de la Légion d'Honneur.

En témoignage de bien vive reconnaissance pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail et pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter de juger notre thèse.

A Monsieur C. PAOLETTI

- Maître de Conférence Agrégé à la Faculté de Pharmacie de Paris.
- Directeur de l'Unité de Biochimie et Enzymologie de l'Institut Gustave Roussy.
- Pharmacien Chimiste Principal de la Marine.

Il nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son laboratoire et de diriger cette thèse avec toute la compétence scientifique et le dynamisme qui rayonnent sur tous les membres de l'Unité de Recherches dont il est à la fois l'âme et le moteur.

Que ce travail soit pour lui un témoignage de notre reconnaissance et de notre profonde et respectueuse amitié.

A Monsieur le Professeur Agrégé P. F. DENOIX

- Directeur de l'Institut Gustave Roussy.
- Chirurgien des Hôpitaux de Paris.
- Officier de la Légion d'Honneur.

Qui nous a fait l'honneur de nous accepter
à l'Institut Gustave Roussy et nous a permis de
réaliser ce travail.

En témoignage de notre reconnaissance et
de notre respectueux dévouement.

A Monsieur G. RIOU

Qui nous a fait profiter de toutes ses
connaissances, et par ses nombreux conseils
nous fût d'un grand secours.

et A Monsieur C. GOSSE

Qui, en accueillant avec bienveillance notre
expérimentation dans son animalerie, a permis
la réalisation de ce travail.

En témoignage de notre profonde gratitude.

A Messieurs J. B. LE PECQ, B. FESTY et
J. Y. LE TALAER.

Avec nos vifs remerciements pour l'aide
efficace qu'ils nous ont apportée et en témoignage
de notre très sincère amitié.

A Mademoiselle J. BONNAFOUX.

A tous les Membres de l'Unité de Biochimie et
Enzymologie de l'Institut Gustave Roussy.

Pour l'aide amicale qu'ils nous ont apportée.

LISTE DES PRINCIPAUX SYMBOLES ET ABREVIATIONS UTILISES DANS LE TEXTE.

DEAE cellulose :	Diéthylaminoéthyl cellulose.
DNA	: Acide désoxyribonucléique.
DNase I	: Désoxyribonucléase neutre.
D. O.	: Densité Optique.
RNA	: Acide Ribonucléique.
Tris	: Tris Hydroxyméthylaminométhane.
U. K.	: Unité Kurnick.
U. V.	: Ultra Violet.
V. de M.	: Vert de Méthyle.
(η)	: Viscosité Intrinsèque.
ϵ_p	: Coefficient d'extinction moléculaire.
μg	: Microgramme ($= 10^{-6}$ gramme).
μM	: Micromole ($= 10^{-6}$ Mole).
$m\mu$	: Millimicron ($= 10$ Angstroem).
Σ	: Somme de ...
$\bar{x}$	: Moyenne.
v	: Variance.
σ	: Ecart type.
σ_m	: Erreur standard
$t =$	: Valeur du test d'homogénéité pour la comparaison des moyennes de deux populations.
$\chi^2 =$	: Valeur du test de conformité.

RECHERCHES SUR L'ACTIVITE
DESOXYRIBONUCLEASIQUE NEUTRE
CHEZ LA SOURIS ISOGENIQUE.

- Etude Génétique et Biochimique -

oOo

INTRODUCTION

"Les physiciens ont fait remarquer que la structure de la matière vivante diffère de façon fondamentale de celle des systèmes physico-chimiques ordinaires. Le comportement de ces systèmes est le reflet du mouvement moyen de populations de molécules statistiquement importantes et où la molécule individuelle a un rôle insignifiant. La matière vivante, en revanche, bien qu'elle se comporte du point de vue métabolique comme un système statistique, dépend en dernière analyse du comportement de certaines molécules individuelles, les gènes".

N.H. HOROWITZ.

Il est maintenant couramment admis que le déterminisme héréditaire de toutes les espèces vivantes s'exprime au niveau des protéines. De nombreux travaux, tant sur les microorganismes que sur les organismes supérieurs, ont permis, au cours de ces dernières années, de déterminer pour une grande part, comment l'information génétique contenue dans le matériau héréditaire - chromosomes, gènes - est transmis à ces molécules hautement spécifiques.

Plusieurs théories s'affrontent mais elles reposent toutes sur un principe unique : les unités génétiques sont supportées par des molécules chimiques de structure bien établie, l'acide désoxyribonucléique - DNA - pour la majorité des organismes vivants, l'acide ribonucléique - RNA - pour certains virus. En schématisant les choses, on peut dire qu'à une extrémité de la chaîne héréditaire, il y a le génotype supporté par les molécules de DNA, à l'autre extrémité il y a le phénotype, dont l'expression biochimique s'effectue essentiellement par les protéines, macromolécules dont la composition se résume à l'enchaînement de vingt acides aminés.

La grande majorité des travaux tendant à expliquer le mécanisme intime de l'hérédité au niveau des protéines et, à fortiori, des enzymes, portent sur l'étude des mutations naturelles ou induites chez les microorganismes.

En effet, le nombre très important d'individus par génération, la rapidité de reproduction, - une génération toutes les vingt minutes en culture sur bouillon à 37° -, la simplicité de constitution - éléments monocellulaires à un seul chromosome -, font des micro-organismes le matériau idéal de l'étude génétique fondamentale. A l'encontre de ces derniers, l'étude de l'hérédité chez les mammifères supérieurs représente une expérimentation longue et fort complexe, et c'est sans doute la raison pour laquelle les travaux restent peu nombreux. La plupart d'entre eux reposent sur l'observation systématique des maladies héréditaires de l'homme chez qui le développement tout récent d'une pathologie de l'hérédité a permis de démontrer le conditionnement génétique de certaines protéines. A ce propos nous ne pouvons passer sous silence les importants travaux d'INGRAM. Ceux-ci ont permis de montrer d'une part que les hémoglobines humaines sont constituées d'unités non identiques, chacune d'elles dépendant d'un locus génétique différent, et que, d'autre part, elles ne diffèrent l'une de l'autre que par la substitution d'un seul acide aminé dans leurs chaînes protéiques (55) (56) (57) (58).

Parmi les protéines, un groupe particulier a retenu l'attention des chercheurs pour l'importance de leurs activités ; les enzymes.

Le tableau n° 1 fournit les principaux exemples relevés dans la littérature sur le conditionnement génétique des enzymes chez les mammifères supérieurs. A ce propos nous remarquons que la plupart des expérimentations reposent sur l'observation d'enzymes chez l'homme, alors que, chez les autres mammifères supérieurs, peu de résultats sont actuellement acquis, en dépit de l'existence de souches pratiquement homozygotes, notamment chez la souris. Dans ce cas, le seul travail reposant sur une stricte étude génétique est celui de LAW et coll. sur la β -glucuronidase hépatique (81) (94) (95) ; les autres données ne se rapportent qu'à des variations notables d'une souche à l'autre, de l'activité de certaines enzymes : Estérases butyriques mammaire (24) et sérique (22) (66) (67) (116), Xanthine-oxydase (36) et Catalase (41) hépatiques, facteurs antiprotéolytiques (23) et Tributyrinases sériques (128).

Disposant de souches génétiquement pures, et à la suite d'observations précédemment relevées par BOHUON (13) il nous a donc semblé intéressant d'étudier le conditionnement génétique d'une autre activité enzymatique, celle de la désoxyribonucléase neutre - DNase I - du plasma de la souris.

En plus de celles déjà mentionnées, les raisons qui président au choix de cet enzyme particulier sont de deux ordres :

- la première est d'ordre théorique : En effet les DNases paraissent universellement répandues tant dans le règne animal que dans le règne végétal et chez les microorganismes (84). De plus, au sein de la classification des enzymes connus à ce jour, elles tiennent une place de

Enzymes	Origines Biologiques	Substrat	Pathologie	Caractères Génétiques	Auteurs
Catalase	Hématies	O ₂ H ₂	Acatalassémie	Caractère récessif très rare	TAKAHARA (122)
Galactose 1 Phosphate Uridyl Transférase	Hématies	Uridine Glucose Diphosphate	Galactosémié	Gène situé sur le chromosome 21	BRANDT et Col. (16) KALICKAR (63)
Diaphorase I	Hématies	Méthémoglobinine	Méthémoglobinémie		GIBSON (38)
Estérase Erythrocytaire	Hématies		Désordre hépatique Anémie	Sous le contrôle d'un seul gène autosomal	SHAW et Col. (115) TASHIAN et Col. (123)
Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase	Hématies	Glucose 6 Phosphate	Hypersensibilité à la Primaquine * *	Le gène se situe sur le groupe de linkage X. Le locus structural et le locus contrôlant la déficience sont étroitement liés.	BOYER et Col. (15) KIRMAN et Col. (69) CHILDS et Col. (21)
Phosphatases	Hématies Sérum	Phénolphthaléine Phosphate	Hypophosphatasie	Liaison étroite du gène avec le groupe ABO	AREDS et Col. (3) HOPKINSON et Col. (50)
Cholinestérase	Sérum	Succinyl choline Benzoyl choline	Sensibilité au Suxaméthonium * *	Deux gènes autosomaux alléliques	KALOW (65)
Phényl Alanine Hydrolase	Foie	Phénylalanine	Phénylcétonurie	Deux allèles - l'allèle mutant entraîne à l'état homozygote le déficit en enzyme.	MITOMA et Col. (93) JERVIS (60) (61)
Acide Homogentisique Oxydase	Foie	Acide Homogentisique	Alcaptonurie	Caractère récessif typiquement mendélien	LA DUE et Col. (77)
Glucuronyl Transférase	Foie	Assure la liaison de la bilirubine avec l'acide glucuronique	Hyperbilirubinémie Congénitale		CRIGLER et Col. (26)
Amylo 1,6 Glucosidase	Foie et muscle cardiaque	Glycogène	Maladie de Von GIERKE	Gène autosomal récessif	ILLINGWORTH et Col. (53) (54) FIELD (35)
Monophosphorylase	Muscles	Glycogène	Myopathie ou Syndrome de Mac ARDLE.	Gène autosomal récessif	SCHMID et Col. (112)
Déhalogénase	Thyroïde	D.L. Diiodothyrosine	Hypothyroïdie	Gène récessif rare	STANBURY et Col. (121)
Tyrosinase	Mélanocytes	Tyrosine	Albinisme	Caractère récessif mendélien	HARRIS (46)
Glucuronidase	Foie	Phénolphthaléide Glucuronide		Un seul gène à caractère dominant	LAW et Col. (81) MORROW et Col. (94) (95)
LACTATE DEHYDROGENASE L.D.H.	Différents tissus (foie, rein, cerveau, testicules, muscle cardiaque)	D.L. Lactate de sodium		Locus unique d'un gène autosomal	SHAW et Col. (114)
Atropine Estérase	Sérum	Atropine Monoacétylmorphine		Gène incomplètement dominant localisé sur le gène groupe de linkage	MARGOLIS et Col. (92) SAVIN (111)
Aryl Estérase	Plasma	Phénylacetate			AUGUSTINSSON et Col. (5) (6) (7).

(*) - Nous ne traitons dans ce tableau que les enzymes qui ont été l'objet d'une étude génétique propre.

(**) - Les sensibilités à certains médicaments ne constituent pas vraiment des manifestations pathologiques.

choix de par la nature même de leur substrat, le DNA qui, comme nous venons de le rappeler, est le premier support de l'hérédité. L'expérience intéressante de RASCH a d'ailleurs permis de mettre en évidence des altérations spécifiques des chromosomes géants des glandes salivaires de la Drosophile, provoquées par l'action de la désoxyribonucléase neutre pancréatique (103).

- la seconde est d'ordre appliqué : de fait, si le rôle physiologique de ces enzymes est loin d'être élucidé, les nombreux travaux ayant trait à ce sujet en laissent prévoir toute l'importance (34). A ce propos, HERRIOTT, dans ses importants travaux sur les DNA infectieux, attribue à la DNase neutre un rôle important de défense contre les infections virales, conséquence directe de la dégradation *in vivo* par cet enzyme du DNA exogène, (48) (49).

Notre contribution à l'étude des désoxyribonucléases est donc plus particulièrement axée sur la détermination d'un éventuel conditionnement génétique de l'activité DNasique neutre du plasma chez la souris.

Dans un premier temps, il nous a fallu choisir parmi les méthodes de dosage de l'activité DNasique, celle qui correspondait le mieux à notre travail. La méthode au vert de méthyle de N. B. KURNICK (74) fut retenue pour des raisons exposées dans la première partie qui, en outre, résume l'ensemble des techniques génétiques, biochimiques et statistiques utilisées. Nous avons de plus été amené à rechercher quelles étaient les souches de souris les plus propices à cette étude. Les travaux précédemment effectués dans ce même laboratoire (13), nous ont guidé dans le choix des souches XLII et C₃H, qui, par croisements successifs, nous ont permis d'obtenir les hybrides F₁, F₂ et Back Cross.

La deuxième partie de notre thèse est consacrée à l'évaluation de l'activité DNasique I du plasma de chacune des souris obtenues dans ces diverses générations. L'ensemble des résultats nous a permis de conclure au déterminisme héréditaire de cet enzyme pour les souches considérées. Toutefois, les lois de la génétique Mendélienne ne suffisent pas à expliquer l'ensemble des résultats obtenus ; dans ce but, les différentes hypothèses envisagées, nous ont conduit à admettre l'interférence d'un facteur cytoplasmique héréditaire de la souche C₃H dont l'activité inhibitrice de l'enzyme dépendrait d'un chromosome sexuel de la souche XLII.

Puisque les souches XLII et C₃H ont une activité DNasique I plasmatique statistiquement différente, nous avons été amené dans une troisième étape à tenter de déterminer quelles étaient les raisons de cette différence. Etait-elle due aux conditions d'élevage des animaux, à une différence dans l'environnement du ou (des) enzyme(s), à une dissimilitude de la structure moléculaire de chacun d'eux, ou encore à une différence quantitative de la production de l'enzyme dans chaque souche ?

Sur le plasma de chacune d'elles nous avons donc déterminé la température de dénaturation thermique de l'enzyme, son activité en fonction du pH, ou de la concentration en ions Mg^{++} ou Mn^{++} , son comportement électrophorétique sur gélose et sur gel d'amidon, ses constantes chromatographiques sur DEAE cellulose. L'ensemble de ces expériences n'a montré aucune différence des comportements de l'enzyme d'une souche à l'autre, ce qui est en faveur d'une régulation différente de la production de cet enzyme dans les deux souches.

La quatrième partie de la thèse résume l'ensemble de nos résultats qui permettent de conclure au conditionnement génétique des désoxyribonucléases neutres du plasma chez les souris XLII et C_3H , dont les écarts d'activité d'une souche à l'autre seraient dûs à une différence dans la production de l'enzyme.

PREMIERE PARTIE

LES TECHNIQUES

- Chapitre I : Techniques Génétiques.
- Chapitre II : Méthodes de Détermination de l'Activité
Désoxyribonucléasique Neutre.
- Chapitre III : Méthodes d'évaluation des Propriétés Biochi-
miques et Enzymologiques comparées des DNases I
Plasmatiques.
- Chapitre IV : Interprétation Statistique.

CHAPITRE I.

TECHNIQUES GENETIQUES

I. - CHOIX DES ANIMAUX

=====

Toute notre expérimentation est exclusivement effectuée sur la souris et il nous a fallu choisir parmi les nombreuses souches existant celles qui, du point de vue de l'activité DNasique neutre de leur sérum, offraient le plus de différences. Or, les variations de l'activité DNasique neutre se révèlent significatives dans les souches de souris suivantes C_3H (0,06), A. K. R. (0,09), RF (0,10), $C_{57}Bl$ (0,14), A_2G (0,18), XLII (0,24)* (13). Ces activités ne semblent pas être liées au sexe, et restent constantes pour une même souche avec l'âge de l'animal entre 60 jours et 6 mois (tableau n° 22), conditions selon lesquelles les animaux sont prélevés. Toutefois, étant déterminées sur un nombre relativement peu important d'individus dans chaque souche, ces valeurs ne représentent qu'une échelle de relation de l'activité DNasique I du plasma entre les différentes souches, mais ne peuvent être prises comme valeur absolue de cette activité. C'est notamment ce qui explique les différences de moyennes d'activité existant pour les souches étudiées, entre ces résultats et ceux que nous exposerons dans ce travail. Pour nos croisements, nous avons utilisé les souches C_3H et XLII.

Dans ce chapitre nous allons donc étudier sommairement les caractères des souches parentales puis nous décrirons les différents croisements effectués et les conditions d'élevage utilisées.

II. - DEFINITION DES SOUCHES PARENTALES

=====

A - Définition de la souche pure :

On appelle souche pure, ou encore isogénique, une souche animale élevé en pure "imbreding", c'est-à-dire par croisements consanguins frère-soeur suffisamment répétés pour parvenir à l'éli-

(*) - La valeur inscrite entre parenthèse représente l'activité DNasique neutre moyenne du plasma évaluée en Unité KURNICK par millilitre.

mination presque totale de gènes hétérozygotes. Le pourcentage de réduction de ces gènes au cours des générations constitue le "coefficient d'imbreding". Ce coefficient est de 19 % à chaque génération ; étant cumulatif, il s'approche de manière asymptotique de la valeur 100 % ; à la vingtième génération il atteint 98,6 % (25) (33). ON admet qu'à partir de la vingtième génération obtenue dans ces conditions, les souris possèdent des caractères génotypiques et phénotypiques fixes.

B - Caractères de la souche C₃H.

Nous employons la souche C₃H/He/Gif qui fait partie des 201 souches homologuées par le Comité de standardisation de la Nomenclature Génétique de la Souris (25). Cette souche créée en 1941, dérive de la souche C₃H/An laquelle provient de la souche C₃H/St créée par STRONG en 1920 par croisement d'une femelle Bagg Albinos avec un mâle D. B. A. Cette souche qui possède 39 générations d'accouplements frère-soeur, a été fournie au laboratoire en 1958 par le Centre National de Sélection des animaux de laboratoire de Gif-sur-Yvette. Depuis, elle est élevée en imbreding à l'Institut Gustave Roussy. Elle est caractérisée anatomiquement par la prédominance de six vertèbres lombaires, et physiologiquement par son manque de robustesse (accidents au sevrage) et par sa sensibilité très élevée aux tumeurs mammaires spontanées (94 %).

Dans le cadre de notre exposé, nous retiendrons que la souris C₃H/He possède un pelage de couleur agouti, et des yeux noirs. Son poids moyen à l'âge de 70 à 80 jours, dans les conditions de notre élevage est de 25,8 $\pm$ 2,98 grammes pour le mâle et de 22,28 $\pm$ 2,12 grammes pour la femelle (*) (**).

C - Caractère de la souche XLII

Cette souche, bien que possédant un nombre suffisant d'accouplements frère-soeur, n'est pas encore homologuée, la nomenclature de ses gènes, et notamment des gènes responsables de la couleur du pelage, n'étant pas encore déterminée. Elle fut créée par Madame DOBROVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA, en 1934, par croisement d'une femelle "LEADEN-BROWN non agouti" du Dr MURAY avec un mâle C₅₇ Black de LITTLE. Les conditions d'obtention de cette souche sont décrites par GOSSE (39).

(*) - Pour avoir une vue générale des poids moyens dans l'ensemble des générations successives, se reporter au tableau 2.

(**) Dans ce chapitre, les poids moyens sont indiqués avec deux fois la valeur de leur écart type : $x \pm 2\sigma$

TABLEAU n° 2 - POIDS MOYENS DES SOURIS C₃H ET XLII et de leurs hybrides F₁, F₂ et back cross à l'âge de 70 à 80 jours.

Série femelle C ₃ H			Série femelle XLII		
Génération femelle x mâle	Mâle (1)	Femelle (1)	Génération femelle x mâle	Mâle (1)	Femelle (1)
Parents C ₃ H . C ₃ H	25,8 ± 2,98	22,2 ± 2,12	Parents XLII . XLII	21,1 ± 3,28	17,4 ± 1,16
F ₁ C ₃ H . XLII	26,8 ± 3,26	21,8 ± 4,04	F ₁ XLII . C ₃ H	22,6 ± 3,04	18,9 ± 2,08
F ₂ F ₁ . F ₁	25,2 ± 4,36	20,5 ± 3,72	F ₂ F ₁ . F ₁	26,4 ± 3,00	21,9 ± 3,48
Back Cross C ₃ H F ₁ . C ₃ H	23,3 ± 4,42	20,4 ± 2,40	Back Cross C ₃ H C ₃ H . F ₁	24,2 ± 4,40	22,4 ± 4,78
Back Cross XLII XLII . F ₁	21,7 ± 3,76	17,8 ± 3,08	Back Cross XLII F ₁ . XLII	25,4 ± 5,36	20,1 ± 3,48

(1) - Les valeurs indiquent en grammes, le poids moyen et la valeur double de son écart type ($\bar{x} \pm 2 \sigma$) calculés pour chaque sexe, à partir de dix individus pris au hasard dans l'élevage.

La colonie dont dérivent les animaux utilisés dans ce travail a été fournie au laboratoire en avril 1959 par le Centre de Sélection des animaux de laboratoire de Gif-sur-Yvette et, depuis lors, est maintenue en pure imbreeding à l'Institut Gustave Roussy par croisement frère-soeur depuis 22 générations.

Cette souris a un pelage de couleur beige et des yeux noirs, contrairement à la souche C_3H/He elle manifeste une grande vivacité et présente très peu de tumeurs spontanées. En effet, seuls sont décrits un cas de fibro-sarcome de type fusohistiocytaire (109) et trois cas de lymphosarcomes mésentériques (40). Son poids moyen à l'âge de 70 à 80 jours, dans les conditions de notre élevage, est de $21,10 \pm 3,28$ grammes pour le mâle et de $17,40 \pm 1,16$ grammes pour la femelle.

III. - CROISEMENTS EFFECTUES - voir tableau n° 3.

=====

A - Hybrides F_1

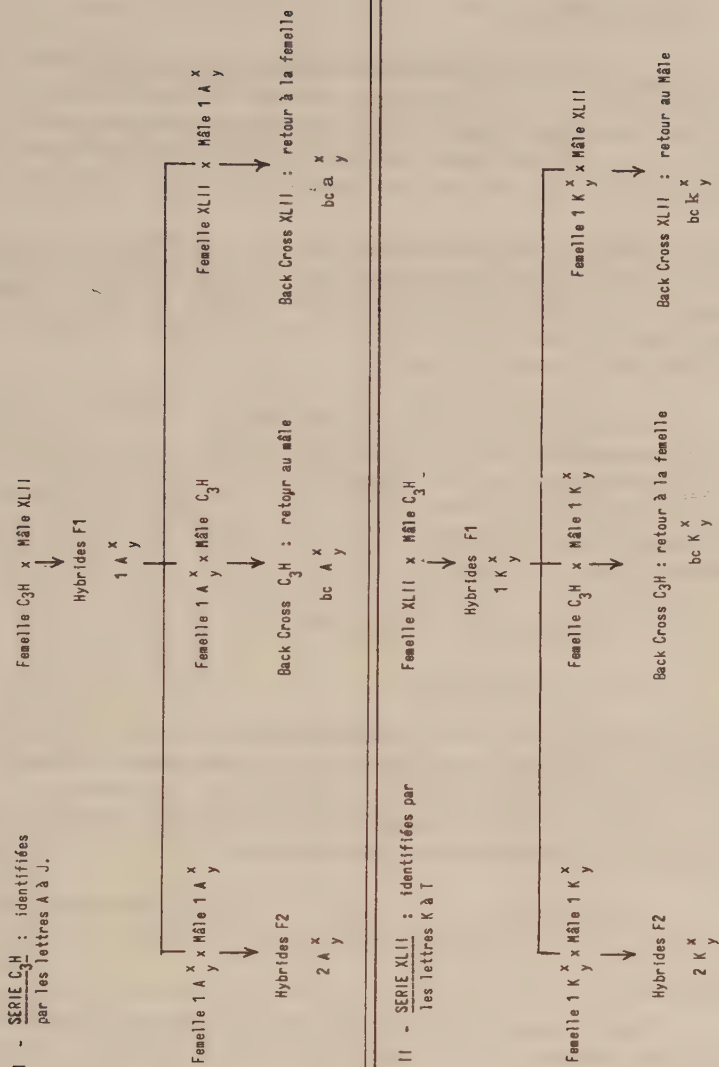
- Croisements : Les hybrides F_1 sont obtenus par croisement des deux souches parentales précédemment décrites. Afin de déterminer une éventuelle liaison au sexe du gène DNase, nous avons d'emblée distingué deux séries de croisements, selon que le géniteur femelle est de souche C_3H ou XLII.

- Caractères des Hybrides : Les hybrides F_1 obtenus dans les deux séries de croisements sont identiques : ils ont un pelage de couleur agouti et les yeux noirs. Ce fait tend à montrer que, si on peut mettre en évidence le conditionnement génétique de la couleur du pelage dans le cas particulier du croisement $C_3H \cdot XLII$, la couleur beige de la souche XLII serait récessive.

Ce sont des souris d'une grande vivacité et capables à l'âge du sevrage - trente jours - de sauter hors de leur cage ce qui représente un bond d'environ 30 cm. Le poids moyen à l'âge de 70 à 80 jours est pour les hybrides issus de femelle C_3H de $26,8 \pm 3,26$ grammes pour le mâle et de $21,8 \pm 4,04$ grammes pour la femelle, et pour ceux issus de femelle XLII de $22,6 \pm 3,04$ grammes pour le mâle et de $18,9 \pm 2,08$ grammes pour la femelle.

- Remarques : Pour les croisements des deux souches XLII et C_3H , la fécondité ne semble pas être la même selon le sens du croisement. En effet, si pour les croisements femelle XLII x mâle C_3H nous n'avons eu aucune difficulté à obtenir des hybrides F_1 , il n'en a pas été de même pour les croisements femelle C_3H x mâle XLII. Dans ce sens, il nous a fallu attendre six mois avant d'obtenir une première génération F_1 , et sur trente accouplements effectués, treize d'entre eux seulement ont été féconds. Par la suite, les croi-

TABLEAU N° 3 - RESUME DES CROISEMENTS EFFECTUES



sements opérés en vue d'obtenir les générations F_2 et Back Cross n'ont posé aucun problème dans les deux séries.

B - Hybrides F_2

Les hybrides F_2 sont obtenus par croisement frère-soeur des hybrides F_1 . N'ayant relevé aucune différence significative de l'activité DNAsique I plasmatique entre les sexes, et pour des raisons d'encombrement dans l'animalerie, nous n'avons pas effectué de croisements (F_1 issu de femelle C_3H). (F_1 issu de femelle XLII).

En F_2 , il y a ségrégation des caractères en ce qui concerne la couleur du pelage. Nous obtenons, en effet, quatre couleurs différentes : les deux couleurs parentales agouti et beige, et deux couleurs intermédiaires, le fauve et le gris. Nous discuterons plus loin l'aspect génétique de la question.

Les souris gardent la même vivacité qu'en F_1 . Le poids moyen à l'âge de 70 à 80 jours est, pour les F_2 issus de femelle C_3H de $25,2 \pm 4,36$ grammes pour les mâles et de $20,5 \pm 3,72$ grammes pour les femelles, et pour ceux issus de femelle XLII de $26,4 \pm 3,00$ grammes pour les mâles et de $21,9 \pm 3,48$ grammes pour les femelles.

C - Croisements de Retour aux parents : Back Cross

1° - Croisements :

Enfin, à partir des hybrides obtenus en F_1 , nous réalisons les croisements de retour aux souches parentales ou Back Cross :

- D'une part, la femelle F_1 est croisée avec un mâle de même souche (C_3H ou XLII) que la mère du F_1 .

- D'autre part, le mâle F_1 est croisé avec une femelle dont la souche (C_3H ou XLII) est opposée à celle qui a fourni la mère du F_1 .

Par exemple, dans la série C_3H , l'hybride F_1 de sexe femelle est croisé avec un mâle C_3H , et l'hybride F_1 de sexe mâle avec une femelle XLII, et vice versa pour la série XLII. Nous avons ainsi obtenu deux séries de back Cross, les Back Cross C_3H et les Back Cross XLII, chaque série étant subdivisée en deux groupes suivant que l'hybride F_1 a une mère C_3H ou XLII.

Pour les mêmes raisons évoquées pour les hybrides F_2 , et la notion d'encombrement étant ici beaucoup plus importante, il nous a été impossible d'effectuer les croisements inverses :

femelle F_1 issue de femelle C_3H x mâle XLII
 mâle F_1 issu de femelle C_3H x femelle C_3H
 femelle F_1 issue de femelle XLII x mâle C_3H
 mâle F_1 issu de femelle XLII x femelle XLII.

2° - Caractères des souris Back Cross

Back Cross C_3H : bc C_3H .

Tous les Back Cross de retour à la souche C_3H , qu'il s'agisse du retour au mâle ou à la famille de cette souche, ont un pelage de couleur agouti et les yeux noirs. Elles ont la même vivacité qu'en F_1 et en F_2 .

Le poids moyen à l'âge de 70 à 80 jours, est de :

- pour le retour au mâle C_3H : $23,3 \pm 4,42$ grammes pour les mâles, et $20,4 \pm 2,40$ grammes pour les femelles.
- pour le retour à la femelle C_3H : $24,2 \pm 4,40$ grammes pour les mâles, et $22,4 \pm 4,78$ grammes pour les femelles.

Back Cross XLII : bc XLII.

Comme on pouvait le prévoir, étant donné le caractère récessif de la couleur du pelage de la souche XLII, déjà signalé pour les hybrides F_1 , les souris de ce croisement, qu'il s'agisse du retour au mâle ou à la femelle XLII, présentent les quatre mêmes couleurs de pelage trouvées en F_2 . Les caractères, yeux noirs et vivacité, restent les mêmes.

Les poids moyens à l'âge de 70 à 80 jours, sont de :

- pour le retour au mâle XLII : $24,4 \pm 5,38$ grammes pour les mâles, et $20,1 \pm 3,48$ grammes pour les femelles.
- pour le retour à la femelle XLII : $21,7 \pm 3,76$ grammes pour les mâles, et $17,8 \pm 3,08$ grammes pour les femelles.

IV. - IDENTITE DES ANIMAUX :

=====

Les animaux sont identifiés selon le code international :

Le numéro matricule de chaque individu est construit sur la formule suivante :

Nom de la souche n A $\begin{matrix} x \\ y \end{matrix}$

- Nom de la souche : C_3H/He - XLII ...

- n : Génération.

- A : Nom de la famille

- x : Numéro de la portée (nième portée de la femelle)

- y : Numéro d'enregistrement individuel. Ces numéros vont de 1 à x pour une période de un mois, et reprennent à 1 le mois suivant.

Pour notre travail, les noms de famille sont divisés en deux groupes selon le sens du croisement : de A à J pour les individus provenant d'une femelle C_3H/He , et de K à T pour les individus provenant d'une femelle XLII.

Etant donné les difficultés de reproduction rencontrées pour les couples géniteurs femelle C_3H x mâle XLII, nous avons été amené, pour obtenir les Back Cross en temps utile, à croiser plusieurs individus d'une même portée. Nous avons donc différencié les couples Back Cross en joignant à leur lettre d'identité l'indice prime ou seconde. Ainsi les souris identifiées par bcj - bcj' - bcj'' sont assimilables à des cousins ayant le même aïeul.

Enfin, pour différencier à la première lecture les Back Cross C_3H les Back Cross XLII, tout en conservant la même identité de famille, nous écrivons la lettre d'identité en majuscule pour les Back Cross C_3H - bcL¹₃₄ - et en grande minuscule pour les Back Cross XLII - bcl¹₂₉. Ainsi, pour chaque animal, qu'il s'agisse d'un hybride F₁ - F₂ ou Back Cross, il nous est possible de remonter directement aux parents et aux grands parents de l'individu, selon son matricule.

Remarque : Les individus des souches parentales - C_3H/He et XLII - nous ont été fournies par l'animalerie de l'Institut Gustave Roussy. Bien que chevauchant la nôtre, nous avons conservé leur identité.

V. - TRAITEMENT DES ANIMAUX : (*)

=====

De toute évidence, pour le but que nous nous fixions, la comparaison de plusieurs générations entre elles, nous devions obtenir les animaux les plus semblables que possible. Il nous a donc fallu, en ce qui concerne leur élevage, opérer dans des conditions strictement définies d'environnement, de nourriture et de traitement.

Les animaux sont gardés dans des pièces à température constante, leur litière est renouvelée deux fois par semaine. Ils sont soumis à une surveillance quotidienne, les animaux morts ou malades étant autopsiés pour permettre un examen macroscopique et, éventuellement, microscopique des organes. Ils reçoivent tous le même régime qui correspond, par jour et par tête, à une ration de 8 à 12 grammes d'aliments cuits en tablettes, exempts de germes anaérobie (**) et de l'eau à volonté.

Les souris sont identifiées à leur naissance puis sevrées par sexe à l'âge de 30 jours. Au moment du sevrage, elles sont vaccinées contre l'ectromélie (vaccin antivariolique de l'Institut Pasteur).

(*) Nous tenons à remercier le personnel de l'animalerie qui, par ses soins constants, nous a permis de mener à bien ce travail.

(**) U.A.R. - formule N° 1 (129).

CHAPITRE II.

METHODES DE DETERMINATION DE L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLEASIQUE NEUTRE

I. - LES DIFFERENTES METHODES

=====

L'ensemble des méthodes de détermination de l'activité désoxyribonucléasique repose sur l'étude des modifications apportées aux propriétés soit physico-chimiques, soit biologiques, du substrat au cours de l'attaque enzymatique, exception faite d'une méthode originale que nous décrirons en fin de chapitre et dont le principe repose sur la diffusion de l'enzyme sur gélose/DNA. Il nous est possible de classer les différentes méthodes suivant qu'elles mesurent (*) :

- a - La quantité d'ions H^+ libérés au cours de l'hydrolyse, celle-ci étant proportionnelle au nombre de liaisons esters rompues (18) (19) (43) (68) (73) (113) (132).
- b - les variations de certaines caractéristiques physico-chimiques :
 - viscosité (11) (42) (79) (82) (83) (90) (130)
 - absorption ultraviolette : (72) (104) (124)
 - constante de sédimentation (102)
 - biréfringence d'écoulement (37)
 - poids moléculaire (124), constante diélectrique (62).
- c - les changements de l'activité biologique, méthodes peu couramment utilisées (131).
- d - apparition des produits de dégradation dialysables ou acido-solubles.

(*) Les références que nous mentionnons ici, renvoient aux auteurs qui ont décrit et utilisé ces différentes techniques. A leur sujet, le lecteur peut aussi se reporter à la revue générale de J.Y. LE TALAER (84).

e - Les changements dans l'affinité du substrat pour certains colorants ou certaines protéines.

Les méthodes des trois premiers groupes a, b, c, soit par leur manque de sensibilité, soit par leurs difficultés de mise en oeuvre étant donné le nombre important d'évaluations qui étaient à prévoir, ne convenaient pas pour la réalisation de ce travail.

Nous allons donc maintenant aborder l'étude des techniques que nous avons utilisées en indiquant, pour chacune d'elles, les raisons de notre choix.

II. - METHODES REPOSANT SUR LE DOSAGE DES PRODUITS DE =====

DEGRADATION DIALYSABLES OU ACIDO-SOLUBLES.

=====

A - Principe

De nombreuses techniques mettent en oeuvre l'une des propriétés de la molécule de DNA d'être, d'une part, non dialysable à travers une membrane de cellophane, d'autre part, précipitable en milieu acide dans certaines conditions, et ce, contrairement aux oligonucléotides de faible poids moléculaire résultant de l'attaque enzymatique. On mesure donc la concentration en oligonucléotides libérés en fonction du temps, soit dans la fraction dialysable (18) (20), soit dans le surnageant acide après élimination du précipité de DNA (1) (43) (72) (75).

Ces méthodes diffèrent d'une part par la nature de la solution acide employée pour la précipitation de l'excès de substrat : LASKOWSKY : acide chlorhydrique (80), ALLFREY et MIRSKY : acide trichloracétique (1), KUNITZ : acide sulfurique (73), KURNICK : acide perchlorique (75) ; d'autre part dans le mode de dosage des oligonucléotides acido-solubles qui peut porter sur l'Azote, le Phosphore, les Bases ou le désoxyribose.

B - Avantages et Inconvénients.

Ces méthodes sont handicapées par la présence de protéines qui altèrent la solubilité des produits de dépolymérisation. Toutefois, elles ont une large gamme d'utilisation. Faciles à mettre en oeuvre, les techniques employées sont telles qu'elles permettent d'intervenir aisément sur la composition finale du milieu réactionnel et ainsi de déterminer les effets sur l'activité DNAsique de la concentration en ions, du pH, et l'activité des inhibiteurs. C'est dans ce but que nous les employons.

C - Techniques utilisées.

1°/ Méthode dite des "acido-solubles" - Nous utilisons la méthode de KUNITZ (72). L'hydrolyse du DNA par l'enzyme libère des oligonucléotides solubles dans une solution alcoolique d'acide perchlorique, alors que le substrat précipite dans les mêmes conditions. Le réactif précipitant l'excès de DNA employé dans cette technique permet à la fois une précipitation totale du DNA, l'absence d'hydrolyse du précipité de DNA obtenu, et une mesure à 260 m μ non perturbée par la présence des protéines plasmatiques qui précipitent.

Nous avons adapté à nos déterminations, les détails techniques décrits par J. Y. LE TALAER et coll. (85).

- Dans un tube à essai, introduire successivement :

- | | |
|--|---------|
| - solution de DNA titrant environ 2 mg/ml | 1,5 ml |
| - solution de tampon de molarité constante
0,4 M, et à pH = 7,5 | 1 ml |
| - solution de MgSO ₄ 0,3 M | 0,50 ml |
| - solution de NaCl 0,14 M en tenant compte
de la quantité de solution d'enzyme à ajouter, | 12 ml |

- Mettre à incuber à 37°C ; puis ajouter la solution enzymatique à titrer.

- Prélever immédiatement et 60 minutes après, 2 ml du mélange qu'on introduit dans un tube refroidi par un bain d'eau glacée et contenant 1 ml d'une solution alcoolique d'acide perchlorique 2,5 N. Centrifuger à froid 15 minutes à 10.000 g. Décanter immédiatement.

- Sur 1 ml de surnageant, doser le désoxyribose par la technique de DISCHE-BURTON (28).

2°/ Remarque : Le spectre d'absorption U. V. à 260 m μ étant sujet à de nombreuses interférences - absorption non négligeable de certaines molécules biologiques et de certains tampons (Véronal, Tris) nous nous sommes limités à la réaction de DISCHE-BURTON, plus spécifique des désoxyribonucléotides.

3°/ Expression des résultats.

L'unité d'activité, conformément aux prescriptions proposées par l'Union Internationale de Biochimie pour l'ensemble des enzymes (125), est représentée par la libération d'une micromole - μ M de [DNA-P par ml et par minute dans le surnageant acido-soluble.

Dans les conditions expérimentales décrites, 1 μ g de DNA-P par ml engendre une coloration de 0,130 en D. O. à 600 m μ . Le poids moléculaire du phosphore étant 31, une micromole de DNA-P par ml absorbera 0,130 x 31 = 4 en D. O. Pour obtenir en micromoles la quantité de DNA-P libérée par ml et par minute dans le surnageant acido-soluble, il suffit donc de diviser par 4 la densité optique du surnageant lue en cuve de 10 millimètres de traversée au spectrophotomètre à 600 m μ .

$$\text{DNA-P } \mu\text{M/ml/mn} = \frac{\text{D. O. à 600 m}\mu}{4}$$

III. - METHODES MESURANT LES CHANGEMENTS DANS L'AFFINITE =====

DU DNA POUR CERTAINES MOLECULES :

=====

A - Principe Général.

Ces méthodes reposent sur la propriété que possède la molécule de DNA à former des complexes stables et solubles avec certaines molécules organiques - protéines et colorants.

DONAHUE et Coll. (30) suivent en fonction du temps l'attaque par l'enzyme du colloïde stable formé par le DNA avec la sérum-albumine en présence de gélatine. Le DNA restant est dosé par une méthode turbidimétrique ; cette technique exclue évidemment les milieux spontanément troubles.

B - Méthode au Vert de Méthyle de N. B. KURNICK.

1°/ Principe

Dans une série d'expériences commencées en 1946, N. B. KURNICK démontre que l'affinité du DNA pour le vert de méthyle dépend de la structure naturelle du DNA. Des changements dans la configuration de la molécule de DNA par des moyens chimiques, physiques ou enzymatiques, entraînent une perte d'affinité pour le vert de méthyle.

Plus tard, N. B. KURNICK et M. W. FOSTER (76) montrent que le complexe DNA-Vert de Méthyle possède un spectre d'absorption dans le visible différent de celui du vert de méthyle libre et que ce complexe est stable à pH 7,5, alors que celui du vert de méthyle libre diminue jusqu'à devenir presque incolore par formation de carbinol. Ces caractéristiques permettent l'évaluation colorimétrique de l'activité DNasique en mesurant la disparition progressive du vert de méthyle lié.

La technique consiste donc à faire agir, à 37°C, dans des conditions définies de pH, force ionique et teneur en Magnésium, la solution contenant l'enzyme sur le complexe formé par un DNA hautement polymérisé avec du vert de méthyle purifié. A intervalles de temps réguliers, une partie aliquote du milieu réactionnel est prélevée, la réaction enzymatique est stoppée par addition de Citrate trisodique qui agit comme inhibiteur de l'enzyme par complexation des ions magnésium. Après décoloration complète du vert de méthyle libéré - environ 18 heures - une mesure spectrophotométrique à 640 mμ permet d'évaluer la quantité du complexe DNA-Vert de Méthyle non dégradée et de tracer la courbe des variations de D.O. en fonction du temps ; la pente de celle-ci est proportionnelle à l'activité DNasique (98).

2°/ Avantages et Inconvénients.

Cette méthode est simple, sensible et reproductible, elle permet des essais en série de beaucoup d'échantillons sans utiliser une grande quantité de DNA - environ 160 déterminations pour 150 mg de DNA - Elle peut être employée pour des produits bruts et même hétérogènes puisque la présence éventuelle de particules dans le milieu réactionnel n'interfèrent pas dans la réaction; en effet, celles-ci peuvent être éliminées sans inconvénient si elles ne se dissolvent pas au cours de la réaction (75). De plus, elle n'est pas très sensible à l'interférence d'autres enzymes (84), ni à la présence d'inhibiteurs endogènes (34). Tous ces avantages font qu'elle est la méthode de choix pour l'évaluation en série de l'activité DNasique des milieux biologiques, et c'est pourquoi nous l'avons si largement utilisée.

Toutefois, il nous faut signaler qu'il est souvent difficile d'obtenir au cours des différentes préparations, un réactif DNA-Vert de Méthyle, possédant strictement les mêmes caractéristiques ; ceci est dû d'une part, au vert de méthyle qui présente un degré de pureté mal défini et dont la qualité diffère suivant l'origine, d'autre part, à la difficulté d'obtenir des lots de DNA dont les caractéristiques physico-chimiques soient constantes d'une préparation à l'autre. De plus, l'expérience montre qu'il est difficile de conserver ce réactif, même en chambre froide, plus de deux ou trois mois ; or, pour notre travail tributaire d'un grand nombre d'évaluations et du temps nécessaire à l'élevage de plusieurs générations successives de souris, il était très important d'obtenir des résultats directement comparables et reproductibles, et donc d'être en possession de réactifs les plus semblables possible. Les moyens utilisés sont décrits ci-dessous.

3°/ Techniques (14)

a) - Réactifs :

R. 1 - Solution de DNA à 2 mg/ml

Nous employons une solution de DNA de thymus de veau dans du NaCl 0,14 M.

TABLEAU N° 4

CARACTERISTIQUES ANALYTIQUES DU DNA UTILISE POUR LA PREPARATION
DES REACTIFS DE KURNICK

I - Caractéristiques Physiques :

- Poids Moléculaire (par diffusion de la lumière) :		$P.M. = 7 \times 10^6$
- Viscosité intrinsèque :		$(\eta) = 5.200$
- Coefficient d'extinction moléculaire (rapporté au DNA - P) :		$\epsilon_P = 6.800$
- Rapport des D.O.	260/230	2,40
	260/240	1,80
	260/280	1,82
- Effet Hyperchromique		40 %

II - Caractères Chimiques :

- Eau	26 %
- Rapport N/P (1)	1,80
- DNA (2)	82 %
- Protéines (3)	0,60 %
- RNA (4)	0,05 %

(1) - Après minéralisation par le perhydrol du DNA, l'Azote est dosé par la méthode classique de KJELDAHL et le Phosphore par la méthode de DRYER et Coll. (32) appliquée au dosage du phosphore nucléiques par TRUHAUT et Coll. (126).

(2) - Le pourcentage de DNA est évalué par le dosage du désoxyribose selon la technique de BURTON (17) (27) (28).

(3) - Les protéines sont dosées par la méthode de LOWRY (88).

(4) - Le RNA est dosé par une technique proposée par DEFANCE et N. de LESDAIN (29)

Le DNA est préparé par nos soins à l'aide d'une méthode à la papaine (4). Afin d'obtenir, dans le temps, une suite de réactifs semblables, nous utilisons pour leur préparation la même solution de DNA après en avoir vérifié, par l'analyse, les principales constantes physico-chimiques - tableau n° 4 -. Pour sa bonne conservation, cette solution est additionnée de chloroforme et gardée en chambre froide à + 4°C. Au moment de l'emploi, le chloroforme est éliminé par barbotage d'un courant d'air au sein de la solution.

R. 2 - Solution aqueuse de Vert de Méthyle

- 1 - solution mère à 0,4 %. Cette solution à 0,4 % en Vert de Méthyle (Merck) est traitée au chloroforme dans une ampoule à décanter jusqu'à élimination complète du cristal violet, impureté toujours contenue dans le vert de méthyle.

Pour la préparation des différents réactifs, nous employons la même solution mère de vert de méthyle.

- 2 - solution fille à 0,04 % ; à préparer extemporanément par dilution au 1/10e dans l'eau distillée.

R. 3 - Solution Tampon acétate 0,04 M. à pH = 4,2

R. 4 - Solution de Vert de Méthyle tamponnée à pH 4,2

- solution de V. de M. à 0,04 % 1 vol.
- solution tampon acétate 0,04 M. à pH 4,2 1 vol.

R. 5 - Solution $MgSO_4$ 0,05 M.

R. 6 - Solution Tampon Tris 0,05 M. pH = 7,6.

- Trishydroxyméthylaminométhane 6 g.
- Eau distillée 800 ml.

On ajuste la solution à pH 7,6 par l'acide chlorhydrique concentré R. P. à la pipette (environ 4 ml). Compléter à 1.000 ml avec de l'eau distillée.

R. 7 - Solution aqueuse de Merthiolate à 1 %.

R. 8 - Solution aqueuse de Citrate de Sodium 0,33 M.

R. 9 - Réactif de KURNICK :

Dans un ballon jaugé de 1000 ml on introduit dans l'ordre et par petites portions, en mélangeant bien, les réactifs suivants :

- Solution de V. de M. 0,02 % tamponnée (R. 4) ...	150 ml
- Solution de DNA (R. 1)	75 ml
- Solution de $MgSO_4$ 0,05 M (R. 5)	150 ml
- Solution Tampon Tris 0,05 M. (R. 6)	500 ml
- Solution de Merthiolate 1 % (R. 7)	1 ml
- Eau distillée	q. s. p. 1.000 ml.

Le pH final doit être de 7,5 ; le réactif est laissé au repos 48 heures avant l'utilisation et conservé en chambre froide à + 4°C. Après 48 heures, sa D.O. à 640 m μ est d'environ 0,800.

b) - Vérification des réactifs.

Chaque nouveau réactif est titré à l'aide d'un même lot de DNase I cristallisée de KUNITZ (*) (71) (89) ; chaque lot étant préparé de la manière suivante :

La DNase I cristallisée est mise en solution dans du NaCl 0,14 M à une concentration de 200 μ g/ml, puis rapidement répartie dans des ampoules que l'on conserve à la température de - 20°C. De cette manière, la DNase conserve dans le temps toute son activité : 0,50 ml de cette solution diluée au 1/200e dans du NaCl 0,14 M - soit une solution de DNase à 1 μ g/ml - aux erreurs d'expérience près et dans les conditions opératoires décrites, révèle une activité de 0,20 UK/ml.

Nous effectuons de plus, sur chaque nouveau réactif, un titrage comparatif avec le précédent, à l'aide de mêmes lots de plasmas de souris XLII et C₃H. Tout réactif ne donnant pas les mêmes valeurs d'activité que le précédent pour ces deux lots et pour la solution de DNase n'est pas utilisé.

Remarque : Nous verrons plus loin, à propos de l'évaluation de la sensibilité de la méthode employée, que le titrage simultané d'une même solution enzymatique à l'aide d'un même réactif donne des activités semblables à 0,04 UK/ml près.

c) - Mode opératoire.

Etant donné la faible quantité de plasma obtenue pour chaque souris, il nous a fallu adapter en microméthode la technique habituelle pour laquelle on doit employer 0,50 ml de plasma.

(*) - DNase cristallisée : WORTHINGTON - Biochemical Corporation.

Nous opérons donc de la manière suivante :

- Dans un tube à essai introduire :

- 6 ml de réactif de KURNICK (R. 9)
- 0,8 ml d'eau distillée.

Laisser incuber quelques minutes au bain marie à 37°C. Pendant ce temps, préparer cinq tubes contenant 0,20 ml de la solution de Citrate de Sodium 0,33 M. (R. 8). Puis ajouter au tube réactionnel : 0,20 ml de plasma.

Agiter et prélever immédiatement 1,2 ml du mélange que l'on introduit dans le premier tube contenant la solution de Citrate de Sodium. On obtient ainsi le point zéro.

Toutes les 15 minutes, et pendant une heure, prélever de même 1,2 ml du mélange. Boucher soigneusement les cinq tubes à l'aide de coton cardé, puis les exposer 18 heures à la lumière, à la température du laboratoire. On lit ensuite la D. O. à 640 mμ dans des microcuvettes de 10 mm de traversée contre de l'eau distillée.

Pour chaque série de dosages, faire un témoin de décoloration spontanée du réactif en remplaçant le plasma par 0,2 ml d'une solution de NaCl 0,14 M. La D. O. ne doit pas varier avec le temps.

d) - Expression des résultats :

On trace la courbe des variations de D. O. en fonction du temps. On obtient en général, une courbe en S dont la pente est proportionnelle à l'activité DNasique. L'unité d'activité enzymatique ou Unité Kurnick -UK- est définie comme étant la quantité d'enzyme qui produirait une réduction du coefficient d'extinction de une unité par minute dans les conditions décrites. La formule suivante permet de calculer directement l'activité en UK/ml dans le milieu étudié :

$$\text{UK/ml} = \frac{DE}{Dt} \times \frac{n_2}{n_1} \times \frac{N}{q}$$

DE : chute de la D. O. pendant le temps Dt.

n1 : volume prélevé dans le tube réactionnel (1,2 ml).

n2 : volume final réactionnel lu au spectrophotomètre (1,4 ml).

N : volume total du mélange initial (7 ml).

q : volume du plasma employé dans la réaction (0,2 ml).

e) - Fidélité de la microméthode employée.

Etant donné les erreurs inhérentes à la technique elle-même, aux pipetages des petites quantités et enfin, à la lecture en micro-cuves, nous avons déterminé la fidélité de notre technique. Tableau n° 5.

- Nous avons pris trois lots de plasma d'activité différente - lots de plasma de souris XLII, C₃H et Hybrides F₁ - que nous avons titrés six fois chacun, en même temps, avec le même réactif et dans les mêmes conditions opératoires. A partir des résultats fournis par chaque lot, nous avons calculé pour chacun d'eux, la dispersion obtenue (calcul de l'écart type σ).

- Puis nous avons pris la moyenne des trois σ ainsi calculée ce qui représente la dispersion moyenne de l'ensemble : $\sigma = 0,0185$.

Une activité donnée x UK/ml, est donc, dans nos conditions opératoires, comprise entre $x + 2 \sigma = x + 0,037$ UK/ml et $x - 2 \sigma = x - 0,037$ UK/ml.

$$\text{soit } \underline{X + 2 \sigma} = \underline{X + 0,04}$$

IV. - MICROTECHNIQUE PAR DIFFUSION SUR GELOSE DNA. :

=====

A - Principe.

Cette technique, proposée très récemment par LE TALAER et Coll. (86) consiste à faire diffuser à 37°C, pendant 18 heures, la solution à étudier dans une gélose contenant du DNA, dans des conditions précises de pH et de force ionique.

L'enzyme réalise ainsi, pendant la diffusion, l'hydrolyse in situ du DNA intimement lié au gel d'Agar. On révèle ensuite les zones de diffusion par une solution à base de vert de méthyle qui colore toute la gélose en vert à l'exception des zones circulaires ayant subi l'hydrolyse et dont le diamètre est fonction de la concentration en DNase.

B - Avantages et Inconvénients :

Cette technique, dont l'originalité est de ne pas être sensible à la présence des effecteurs de l'enzyme, permet l'évaluation semi-quantitative de l'activité DNasique neutre d'un grand nombre d'échantillons à partir de très faibles quantités de matériel. Nous l'avons utilisée en parallèle avec la méthode de KURNICK pour rechercher l'éventuelle activité des différentes fractions, obtenues par chromatographie des plasmas de souris C₃H et XLII.

TABLEAU N° 5
FIDELITE DE LA MICROMETHODE

Déterminations	Plasma N° 1 Lot C ₃ H	Plasma N° 2 Lot XLII	Plasma N° 3 Lot Hybrides F1
1	0,12	0,39	0,20
2	0,14	0,40	0,17
3	0,17	0,38	0,16
4	0,19	0,39	0,18
5	0,14	0,41	0,16
6	0,14	0,39	0,16
Total	0,90	2,36	1,03
Moyenne	0,15	0,39	0,17
Variances	0,00064	0,00012	0,00026

$$\text{Moyenne des Variances : } v = \frac{0,00064 + 0,00012 + 0,00026}{3} = 0,00034$$

$$\text{Ecart type } \sigma = \sqrt{0,00034} = 0,0185$$

V - TECHNIQUE DE PRELEVEMENT DU SANG

=====

Le sang que nous devons recueillir en vue de la détermination de l'activité DNasique neutre du plasma doit correspondre aux impératifs suivants :

- être reçu sur une quantité d'héparine suffisante pour obtenir le plasma, toujours la même au cours des différents prélèvements, et à une dose non inhibitrice pour la DNase plasmatique.

- ne pas être hémolysé afin d'éviter la libération dans le plasma des inhibiteurs présents dans les éléments figurés du sang (34) (47) (48). Pour les mêmes raisons, le sang devra être correctement centrifugé.

- être en quantité suffisante - environ 0,50 ml de sang pour recueillir les 0,20 ml de plasma nécessaire à la réaction.

- être recueilli en individuel, l'éventuel mélange du sang de plusieurs souris étant à éliminer d'emblée si nous voulons tenter de déterminer une relation entre l'activité DNasique du plasma et tout autre caractère génétiquement conditionné.

Pour répondre à ces impératifs, nous opérons de la manière suivante : Après une légère anesthésie à l'éther et rasage de la peau, nous faisons une boutonnière au niveau du cou et nous sectionnons la carotide en tenant la souris de bas en haut. Le sang s'écoule goutte à goutte et nous le recueillons dans des tubes à hémolyse. Ceux-ci ont reçu au préalable deux gouttes d'une solution de Liquémine Roche à 50 mg/ml d'héparine diluée au 1/100e dans de l'eau, puis ont été séchés à l'étuve. La quantité d'héparine utilisée - 50 µg par tube pour un prélèvement moyen de 0,50 ml de sang - correspond à celle utilisée en général pour les prélèvements sanguins chez l'homme en biologie clinique. A cette dose, l'héparine n'a aucune action inhibitrice sur l'activité désoxyribonucléasique neutre du plasma (34) (75).

Cette méthode qui a l'inconvénient de sacrifier la souris, permet de recueillir une quantité de sang supérieure à celle obtenue par la technique de prélèvement décrite par RILEY (105). De plus, le sang n'est plus sujet à des dilutions variables par la solution anticoagulante et la quantité d'héparine utilisée est la même d'un prélèvement à l'autre.

Les sangs sont ensuite centrifugés à vitesse lente et les plasmas séparés.

Les prélèvements hémolysés - en moyenne une hémolyse sur 25 prélèvements - ne sont pas utilisés.

CHAPITRE III.

METHODES D'EVALUATION DES PROPRIETES BIOCHIMIQUES ET ENZYMOLOGIQUES COMPAREES DES DNases I PLASMATIQUES.

I. - GENERALITES =====

Etant donné les différences notables d'activité DNasique neutre des plasmas de souris de souche XLII et C₃H, nous avons tenté de déterminer si, dans chacun des cas, nous étions en présence de deux protéines-enzymes chimiquement différentes.

Dans un premier temps, nous avons donc essayé de caractériser l'enzyme par ses propriétés de mobilité électrophorétique sur gélose et sur gel d'amidon, puis de le concentrer par chromatographie sur DEAE cellulose.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié certaines de ses propriétés biochimiques en établissant les courbes de dénaturation thermique, le pH optimum d'activité et l'action des ions activateurs Mg²⁺ et Mn²⁺ à différentes concentrations.

Pour obtenir des résultats directement comparatifs, il nous fallait évidemment disposer d'une quantité suffisante de plasma ; nous avons donc été amenés, pour chaque détermination, et à l'intérieur de chaque souche, à réunir, dans un même lot, les plasmas d'un nombre égal de souris de chaque sexe.

II. - ELECTROPHORESES =====

Deux techniques courantes et éprouvées sont utilisées dans ce travail afin de caractériser, par électrophorèse, les protéines sériques des animaux étudiés et de déterminer à quel groupe de protéines appartient la (ou les) DNase (s) neutre (s) du sérum de chacun d'eux.

A - Electrophorèse sur Gélose :

Nous effectuons sur chaque sérum deux protéinogrammes simultanés : l'un sur Gélose pour révéler l'ensemble des protéines sériques, l'autre sur Gélose-DNA, pour mettre en évidence la désoxyribonucléase.

1°/ - Pour l'ensemble des protéines sériques, nous utiliserons la microméthode classique : Une solution de 4 ml de Gélose à 1,5 % de tampon véronal 0,1 M à pH = 8,3 est coulée sur des lames de 75 x 25 cm préalablement fixées. Immédiatement après la solidification de la Gélose, les sérums sont inclus dans une petite cuve cylindrique d'environ 1 mm de diamètre et creusée au milieu de la plaque de gélose. La migration protéinique se fait pendant 45 minutes sous une tension de 5 Volts/cm au sein d'une enceinte fermée afin d'éviter la dessiccation très rapide de la gélose. Nous utilisons à cet usage, une cage en plexiglass couvrant les bacs de conduction du courant électrique. La fixation des protéines se fait en immergeant les lames pendant une heure dans une solution d'acide acétique à 2 %. Les plaques sont ensuite séchées à l'étuve à 37° C jusqu'à dessiccation complète. Les protéines sont colorées à l'aide d'une solution d'Amido Schwartz suivie d'une révélation au Méthanol acétique.

2°/ - Pour mettre en évidence la DNase, le sérum migre sur une gélose dans laquelle on a, au préalable, incorporé, à une température voisine de 60° - 65°, du DNA à raison de 15 mg/100 g de gélose. Après migration on dépose les lames en enceinte humide 16 h. à 37° C pour permettre à la DNase d'hydrolyser le DNA. On révèle ensuite par une solution au Vert de Méthyle semblable à celle utilisée dans la technique de détermination de l'activité DNasique par diffusion sur gélose (86).

Les deux plaques sont ensuite comparées.

B - Electrophorèse sur Gel d'Amidon :

Parallèlement, nous employons une technique d'électrophorèse plus fine que la précédente et employée en médecine légale (127), la technique sur gel d'amidon. Elle permet d'obtenir, en plus des conditions habituelles aux autres méthodes, un effet de filtration des pores du Gel d'Amidon vis-à-vis des grosses molécules.

La technique utilisée est celle de SMITHIES (118) (119), adaptée à la recherche de la DNase : Dans un premier temps, les protéines plasmatiques migrent sur des bandes de papier selon la technique habituelle, puis dans un second temps, on obtient un nouveau fractionnement en gel d'amidon.

Pour mettre en évidence la DNase, nous incorporons à 100 mg de la préparation habituelle de gel d'amidon, à pH = 8, 15 mg de DNA

en opérant à une température voisine de 70°C. La migration s'effectue sous une tension de 10 Volts/cm pendant 3 heures, les plaques étant refroidies à + 4°C par une circulation d'eau.

Après la migration, les plaques sont exposées 16 h. à 37°C en milieu humide puis coupées en deux parties suivant la tranche ; l'une d'elles est colorée par l'Amido Schwartz afin de révéler les protéines par le méthanol acétique ; l'autre est colorée par le vert de méthyle dans les mêmes conditions que précédemment pour mettre en évidence la DNase.

III. - CHROMATOGRAPHIE

=====

Nous utilisons une technique de chromatographie sur une cellulose anionique, la DEAE cellulose, - Diethyl Amino Ethyl Cellulose -, titrant 0,90 mg/g.

L'obtention des chromatogrammes comporte un certain nombre d'opérations décrites par PETERSON et SOBER (99) (100) (120) et que nous nous proposons de résumer :

A - Préparation des colonnes :

La DEAE cellulose est amenée sous sa forme base libre par traitement à la Soude 0,1 N. Après lavage abondant à l'eau distillée, elle est mise en suspension dans la solution tampon de départ, puis introduite dans des colonnes cylindriques de 40 cm x 1,4 cm, à raison de 3 g de DEAE cellulose par colonne en ayant soin d'éviter toute formation de bulles d'air. Les colonnes refroidies 24 h. à + 4°C sont ensuite soumises à un lavage continu à l'aide du tampon de départ.

B - Préparation du sérum et Elutions :

Le sérum est dialysé en chambre froide à + 4°C contre le tampon de départ pendant 18 h. On charge ensuite la colonne avec un échantillon de dialysat correspondant à 180 mg de protéines pour les 3 g de cellulose employée.

Les protéines fixées sont alors éluées par des tampons dont la molarité augmente progressivement.

L'utilisation d'éluants de concentration régulièrement croissante permet d'éviter la tendance qu'ont les pics d'élué à donner des traînées. Les gradients peuvent s'effectuer à pH constant et force ionique croissante. De nombreux systèmes permettent d'obtenir des gradients linéaires, convexes, concaves ou biconvexes ainsi qu'un dispositif à gradient variable (100). Nous utilisons le système le plus simple qui permet d'obtenir un gradient à pH décroissant - de pH = 8,3 à pH = 5 - et de force ionique croissante - de μ = 0,03 à μ = 0,2.

L'appareil est constitué de deux récipients montés l'un au dessus de l'autre (Fig. n° 1) : le supérieur contient le tampon éluant de forte molarité ou tampon limite, l'inférieur, ou chambre de mélange, contient le tampon éluant de faible molarité ou tampon de départ. Le tampon limite s'écoule goutte à goutte dans la chambre de mélange ; le tampon résultant s'écoule à travers la colonne à chromatographier. On obtient ainsi un gradient convexe.

La chromatographie se fait en chambre froide à + 4°C ; le débit est réglé à 20 ml/heure. Les fractions de 5 ml sont recueillies par un collecteur automatique.

C - Analyse des fractions chromatographiques :

Sur chaque fraction nous déterminons, d'une part, le taux en protéines soit par mesure de l'absorption à 178 m μ , soit par la technique plus spécifique de LOWRY et Coll. (88) ; d'autre part, l'activité DNasique par la méthode de diffusion sur gélose (voir chapitre précédent) après lyophilisation de chaque fraction et redissolution dans 0,50 ml de solution tampon Tris 0,1 M.

IV. - TECHNIQUES UTILISEES POUR L'ETUDE COMPARATIVE =====

DE CERTAINES CONSTANTES DE L'ACTIVITE DNasique I =====

du PLASMA DES SOUCHES XLII et C₃H. =====

A - Dénaturation Thermique.

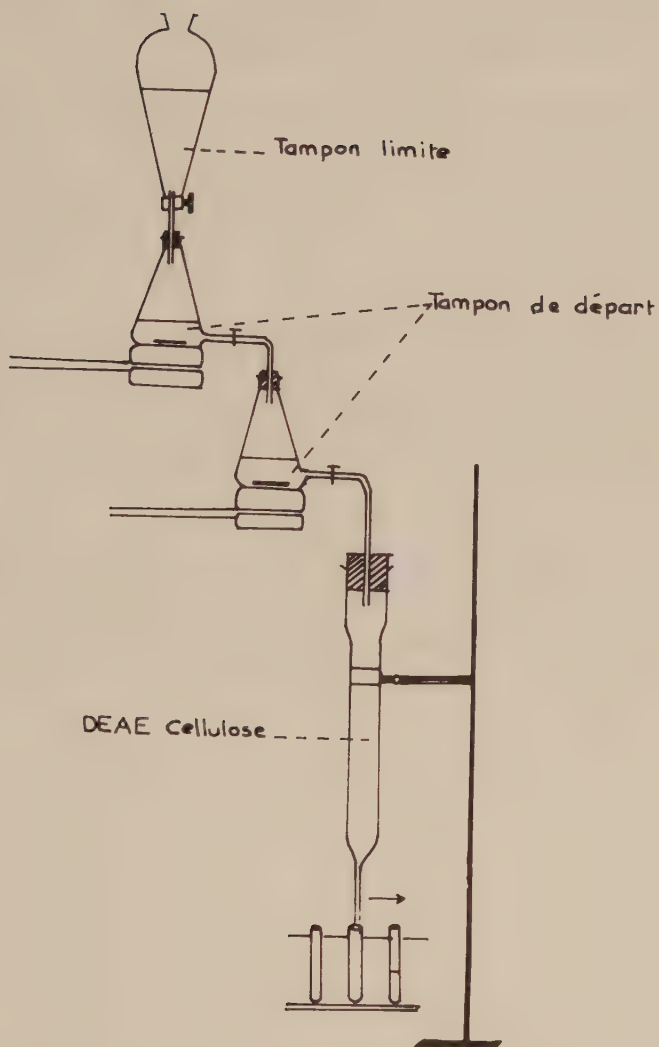
L'étude de la dénaturation thermique de la DNase I du plasma des souris des souches XLII et C₃H est faite en deux temps :

- Dans un premier temps, les plasmas dilués dans du NaCl 0,14 M sont exposés au bain-marie à des températures variables - de 37° C à 60° C tous les deux degrés - pendant un temps constant de trente minutes.

- Dans un deuxième temps, et compte tenu des résultats fournis par l'expérience précédente, les dilutions de plasma sont exposés au bain-marie à la température constante de 52° C pendant des temps variables - de 30 minutes à 8 heures, toutes les trente minutes. -

Les traitements préalables sont suivis de la détermination de l'activité DNasique neutre par la méthode de KUNITZ telle qu'elle a été décrite au chapitre précédent. Le choix de la prise d'essai à analyser est déterminée préalablement : on utilise habituellement la quantité de dilution de plasma correspondant à l'activité de 0,2 μ g de DNase I cristallisée.

FIGURE N° 1

DISPOSITIF CHROMATOGRAPHIQUE A GRADIENT CONVEXE

B - Détermination du pH optimum d'activité

L'activité DNasique neutre d'un même lot de plasma est déterminée par la méthode dite des "acido-solubles" sur une gamme de pH allant de 5,9 à 9.

Les solutions de tampon utilisées ont une molarité constante et égale à 0,033 M. dans le milieu réactionnel. Nous employons le système tampon PO_4HNa_2 - $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$ pour les pH allant de 5,9 à 7,5 et le système véronal - véronal sodique pour les pH allant de 7,2 à 9.

Le pH de chaque solution est vérifié avant et après réaction à l'aide d'un pH mètre sensible au 1/100e d'unité pH (*).

La détermination pour les conditions décrites (voir chapitre précédent) s'effectue sur 0,20 ml de plasma de la souche XLII, 0,40 ml pour la souche C_3H , et sur 0,10 ml d'une solution à 1 $\mu\text{g/ml}$ de DNase de KUNITZ (**) dans le NaCl 0,14 M.

C - Détermination de l'activité DNasique en fonction de la concentration en ions activateurs.

La détermination de l'activité DNasique par la méthode de KUNITZ est pratiquée en mettant en oeuvre un milieu réactionnel comportant 25 μM Mg^{++} par ml, l'ion Mg^{++} étant activateur de la réaction.

Nous nous sommes proposés de déterminer l'activité DNasique, en faisant varier la concentration de cet ion activateur de 0 à 80 μM par ml de mélange réactionnel. La même opération a été faite en remplaçant le magnésium par l'ion Mn^{++} à des concentrations de 0 à 40 μM par millilitre de mélange réactionnel.

(*) Le pH mètre utilisé est un RADIOMETER, type PHM 4 C.

(**) WORTHINGTON - Biochemical Corporation.

CHAPITRE IV.

INTERPRETATION STATISTIQUE*

Dans le relevé de nos résultats et pour leur interprétation, nous faisons appel à quelques données statistiques. Afin d'éclairer le lecteur peu rompu à ces problèmes, nous allons très brièvement rappeler les principes de calcul et l'interprétation des chiffres statistiques que nous employons.

I. - LES PARAMETRES D'UNE DISTRIBUTION DE FREQUENCES

=====

Une série de mesures que l'on peut grouper en une distribution de fréquences n'est définie de manière complète que par le tableau des fréquences des classes. Les caractéristiques principales de celui-ci sont alors résumées par des grandeurs numériques appelées paramètres de la distribution. Parmi ceux-ci, nous utilisons : la moyenne, la variance et l'écart type, l'erreur standard.

A - La moyenne

La moyenne d'une série de mesures est la moyenne arithmétique de l'ensemble des mesures, c'est-à-dire le rapport de leur somme à leur nombre. Pour une série de mesures $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$, la moyenne $\bar{x}$ est donnée par :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 \dots x_n}{n} = \frac{\sum x}{n}$$

(*) Les données de ce paragraphe ont été relevées dans le fascicule de Monsieur le Professeur GUY (45) et celui de Monsieur le Professeur LAMOTTE (78) auquel nous renvoyons le lecteur désireux d'approfondir les problèmes statistiques couramment employés en Biologie.

B - Variance et écart type.

La dispersion d'une distribution peut être chiffrée par sa variance et son écart type. La variance est par définition la moyenne des carrés des écarts à la moyenne. Elle s'exprime par :

$$v = \frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2 \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n}$$

$$\text{soit } v = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}$$

L'écart type ou écart quadratique moyen est la racine carrée de la variance :

$$\sigma = \sqrt{v} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}}$$

Les valeurs comprises entre : $x - \sigma$ et $x + \sigma$ soit $x \pm \sigma$ englobent 68,3 % de la totalité des résultats.

$x - 2 \sigma$	et $x + 2 \sigma$	soit $x \pm 2 \sigma$		95,5 % ...
$x - 2,6 \sigma$	et $x + 2,6 \sigma$	soit $x \pm 2,6 \sigma$		99 %
$x - 3 \sigma$	et $x + 3 \sigma$	soit $x \pm 3 \sigma$		99,7 % ...

On utilise en général l'expression $x \pm 2 \sigma$

C - Erreur standard ou intervalle de confiance d'une moyenne.

La moyenne étant la valeur centrale la plus représentative d'une distribution, il est intéressant de savoir dans quelle mesure elle représente la moyenne de la totalité des individus d'une même population. Cette estimation se fait par le calcul de l'erreur standard qui est en fait l'écart type de la moyenne. Elle s'exprime par :

$$\sigma_m = \frac{\sigma_p}{\sqrt{n}}$$

où σ_p représente l'écart type de la population.

Il suffit donc de reporter deux fois de part et d'autre de la moyenne la valeur de l'erreur standard - $\bar{x} \pm 2 \sigma_m$ - pour en con-

naître les limites de sécurité, c'est-à-dire les valeurs telles qu'il y ait moins de 5 % de chance que la vraie valeur cherchée de la population ne s'écarte davantage de la moyenne trouvée pour l'échantillon.

Notons que le carré de l'erreur standard $\sigma_m^2 = \frac{\sigma_p^2}{n}$ représente la variance de la moyenne, appelée variance standard.

II. - TESTS D'HOMOGENEITE DE DEUX ECHANTILLONS

=====

Dans l'interprétation de nos résultats génétiques, il est essentiel de savoir si deux ou plusieurs séries d'individus peuvent être réellement considérées comme différentes. Ainsi par exemple, vis-à-vis de l'activité DNase I du plasma, la souche XLII est-elle réellement statistiquement différente de la souche C₃H ?

Les méthodes statistiques nous permettent, par la comparaison des moyennes et des variances, de savoir si, compte tenu de la différence observée, il est vraisemblable ou non que les séries soient identiques.

A - Comparaison de deux moyennes m_1 et m_2 .

Le principe de la méthode utilisée consiste à supposer que les deux échantillons proviennent de la même population dont la variance standard s_d^2 est donc égale à la somme des variances standards des distributions des deux moyennes considérées :

$$s_d^2 = s_{m_1}^2 + s_{m_2}^2 = \frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}$$

$$\text{d'où nous tirons : } s_d = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}$$

s_d est donc l'erreur standard de cette population considérée comme unique, c'est-à-dire l'erreur standard de la différence des moyennes.

On dit alors que la différence des moyennes ($m_1 - m_2$) est statistiquement significative lorsque le rapport t de cette différence à l'erreur standard de la différence des moyennes est supérieure à 2 pour une sécurité de 95 % et à 2,6 pour une sécurité de 99 %.

$$t = \frac{m_1 - m_2}{s.d.} = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$$

m_1 et m_2 sont les moyennes des deux séries à comparer, σ_1^2 et σ_2^2 leurs variances, n_1 et n_2 le nombre d'individus de chaque série.

B - Comparaison de deux variances :

Pour comparer deux variances σ_1^2 et σ_2^2 on établit leur rapport en mettant toujours la valeur la plus forte au numérateur :

$$F_{1,2} = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}$$

Puis on se reporte aux tables de SNEDECOR qui donnent directement les valeurs limites de $F_{1,2}$ au dessus desquelles la divergence entre σ_1^2 et σ_2^2 est trop grande pour être attribuée au seul hasard et doit être considérée comme significative.

III. - TEST D'HOMOGENEITE D'UN ENSEMBLE D'ECHANTILLONS

Analyse de la variance :

Les méthodes utilisées pour la comparaison de deux échantillons sont évidemment applicables à un ensemble de plusieurs échantillons en les confrontant deux à deux, mais si on veut évaluer d'un coup l'homogénéité de l'ensemble, c'est-à-dire, s'il y a ou non une diversité entre les lots étudiés, il devient nécessaire d'utiliser d'autres méthodes plus générales.

Nous avons employé ce test, d'une part, pour déterminer l'homogénéité de chaque génération et, d'autre part, pour savoir s'il existait une liaison entre l'activité DNAsique du plasma et les quatre couleurs génétiquement conditionnées de leur pelage chez les souris hybrides F_2 et Back Cross XLII.

TABLEAU N° 6 - EXEMPLE DES CALCULS STATISTIQUES POUR L'EVALUATION DU TEST D'HOMOGENEITE DE PLUSIEURS ECHANTILLONS.

Le problème est de savoir s'il existe ou non une relation entre l'activité DNasique I plasmatique et la couleur du pelage chez les hybrides F2 des croisements des souches XLII et C₃H.

	Agouti	Fauve	Gris	Beige
Nombre de déterminations dans chaque classe	$N_1 = 49$	$N_2 = 20$	$N_3 = 19$	$N_4 = 12$
Somme des activités DNasiques x	$\Sigma x_1 = 11,72$	$\Sigma x_2 = 4,95$	$\Sigma x_3 = 4,16$	$\Sigma x_4 = 2,18$
Moyenne de l'activité et carré de cette moyenne	$m_1 = 0,239$ $m_1^2 = 0,0571$	$m_2 = 0,247$ $m_2^2 = 0,061$	$m_3 = 0,218$ $m_3^2 = 0,0475$	$m_4 = 0,181$ $m_4^2 = 0,0327$
Somme des carrés des activités DNasiques x^2	$\Sigma x_1^2 = 3,6446$	$\Sigma x_2^2 = 1,4437$	$\Sigma x_3^2 = 1,0236$	$\Sigma x_4^2 = 0,4667$

$$M = \frac{m_1 \cdot N_1 + m_2 \cdot N_2 + m_3 \cdot N_3 + m_4 \cdot N_4}{N_1 + N_2 + N_3 + N_4} = \frac{23,01}{100} = 0,230$$

$$M^2 = 0,0529 \quad 100 M^2 = 5,29$$

$$\Sigma x^2 = \Sigma x_1^2 + \Sigma x_2^2 + \Sigma x_3^2 + \Sigma x_4^2 = 6,5786$$

- Dispersion totale S_t^2 des résultats autour de la moyenne générale M :

$$S_t^2 = \Sigma (x - M)^2 = \Sigma x^2 - 100 M^2 = 6,5786 - 5,29 = 1,2886$$

avec $100 - 1 = 99$ degrés de liberté

- Dispersion factorielle S_f^2 , c'est-à-dire dispersion due aux quatre couleurs :

$$S_f^2 = \Sigma (m - M)^2 = (49 m_1^2 + 20 m_2^2 + 19 m_3^2 + 12 m_4^2) - 100 M^2$$

$$= (2,7979 + 1,2200 + 0,9025 + 0,3924) - 5,29$$

$$5,3128 - 5,29 = 0,0228 \text{ avec } 4 - 1 = 3 \text{ degrés de liberté.}$$

- Dispersion résiduelle S_r^2 , c'est-à-dire dispersion imputable seulement aux fluctuations fortuites :

$$S_r^2 = S_t^2 - S_f^2 = \Sigma x^2 - (49 m_1^2 + 20 m_2^2 + 19 m_3^2 + 12 m_4^2)$$

$$S_r^2 = 6,5786 - 5,3128 = 1,2658$$

avec $100 - 4 = 96$ degrés de liberté puisque les 100 valeurs de x sont liées par quatre relations :

$$\Sigma x_1 = 49 m_1 \quad \Sigma x_2 = 20 m_2 \quad \Sigma x_3 = 19 m_3 \quad \text{et} \quad \Sigma x_4 = 12 m_4$$

Dispersion	Degrés de liberté	Variances	Rapport des Variances
$S_t^2 = 1,2886$	99	$Uf = \frac{S_f^2}{3} = 0,0076$	$\frac{Uf}{Ur} = 0,58$
$S_f^2 = 0,0228$	3	$Ur = \frac{S_r^2}{96} = 0,0131$	
$S_r^2 = 1,2658$	96		

Cette valeur 0,58 est faible et inférieure à celle fournie par la table de SNEDECOR pour les degrés de liberté 3 et 96 : 2,70 pour un coefficient de sécurité de 95 %. Il n'existe donc aucune relation entre l'activité DNasique I plasmatique et la couleur du pelage chez les hybrides F2 du croisement des souches XLII et C₃H.

Le principe consiste à supposer que l'ensemble des populations à comparer est homogène. On estime alors de deux façons différentes et indépendantes la variance de cet ensemble de populations considéré comme unique : l'une des estimations est faite de façon à éliminer les influences du facteur agissant sur les différents lots - dans notre cas : la couleur du pelage agissant sur l'activité DNAsique neutre du plasma - ; l'autre est telle qu'elle met en évidence les influences éventuelles de ce même facteur.

On confronte ces deux estimations comme il a été fait pour la comparaison des deux variances et en se reportant aux tables de SNEDECOR. Si la divergence est significative, l'hypothèse d'une même population d'origine pour l'ensemble des échantillons est à rejeter. Sinon, les différences observées sont peut être simplement dues à des écarts fortuits d'échantillonnage. Nous donnons un exemple concret de ces calculs dans le tableau n° 6.

IV. - TEST DE CONFORMITE : CRITERE DU χ^2 =====

Etant donné les quatre couleurs observées pour le pelage des hybrides F2 et des Back Cross XLII, nous avons été amené à nous demander si la répartition des couleurs dans chacune de ces générations correspondait à celle décrite par les théories génétiques. Bien entendu, le nombre de nos résultats expérimentaux étant limités, ceux-ci ne sont pas exactement conformes à la distribution théorique.

Nous avons utilisé le critère du χ^2 pour savoir si les divergences observées sont imputables au seul hasard, ou si elles impliquent un désaccord réel entre les faits et l'hypothèse théorique admise, en l'occurrence la deuxième loi de MENDEL.

Pour caractériser la divergence χ^2 entre les deux distributions que l'on compare, on considère pour chaque classe l'écart quadratique réduit $\frac{(a - \alpha)^2}{\alpha}$ où a est la fréquence observée et α la fréquence théorique :

$$\chi^2 = \frac{(a_1 - \alpha_1)^2}{\alpha_1} + \frac{(a_2 - \alpha_2)^2}{\alpha_2} + \dots + \frac{(a_n - \alpha_n)^2}{\alpha_n}$$

On se reporte alors aux tables de K. PEARSON donnant les valeurs limites du paramètre χ^2 en fonction du nombre de degrés de liberté. Plus la valeur calculée du χ^2 est inférieure à la limite imposée par les tables, plus la distribution observée est conforme à la distribution théorique.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE GENETIQUE DE L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLEASIQUE NEUTRE DU PLASMA DES SOUCHES C₃H ET XLII ET DE LEURS HYBRIDES F₁ - F₂ ET BACKCROSS.

INTRODUCTION.

- Chapitre I : Valeurs expérimentales.
- Chapitre II : Représentations graphiques.
- Chapitre III : Remarques sur le Conditionnement Génétique de la couleur du pelage chez les souris de souche XLII et C₃H.
- Chapitre IV : Discussion et Conclusion.

INTRODUCTION

L'exposé de cet ensemble pose certains problèmes ; en effet, si les méthodes statistiques nous ont permis d'éliminer d'emblée certains facteurs pouvant intervenir sur l'expression phénotypique observée - âge des animaux, poids, couleur du pelage pour certaines générations -, il en reste d'autres que l'on ne peut éliminer sans altérer l'exactitude de cet ensemble et de ses conclusions. Ainsi, par exemple, comment représenter d'une manière simple et dans la totalité de ses éléments, les résultats donnés par la génération des hybrides F_1 où sens du croisement et sexe des individus semblent jouer un rôle prédominant sur l'activité DNasique I de leur plasma ?

Dans la présente partie, nous allons rendre compte de cet ensemble, et faute de ne pouvoir simplifier, nous opérons comme suit : Dans un premier chapitre, sont exposés sur des tableaux classés par génération, les résultats un à un tels que nous les avons obtenus en donnant le maximum de renseignements sur chacun des individus, puis suit le tableau récapitulatif des données statistiques calculées à partir des précédents.

Ces tableaux nous permettent, dans un deuxième chapitre, d'exposer sous forme graphique et donc plus parlante, les résultats de chacun d'eux. Nous terminerons par le diagramme général donnant une récapitulation homogène de notre étude et qu'on ne doit interpréter qu'en tenant compte des restrictions qui le précèdent.

Avant de conclure, un troisième chapitre expose quelques remarques sur le conditionnement génétique de la couleur du pelage chez les souris XLII et C_3H en tentant de rapprocher ce phénomène du conditionnement génétique de la DNase neutre de leur plasma.

CHAPITRE I.

VALEURS EXPERIMENTALES

Les tableaux n° 7 à n° 16 exposent l'ensemble de nos résultats. Pour chaque détermination, nous donnons l'identité de la souris dans le système de recensement que nous avons adopté, son poids, son âge le jour du prélèvement, l'activité DNasique neutre de son plasma évalué par la méthode de N. B. KURNICK précédemment décrite. La couleur du pelage n'est mentionnée que lorsqu'elle varie d'un individu à l'autre dans la même génération ; nous verrons que ce caractère peut revêtir une certaine importance si on tente de déterminer son éventuelle corrélation avec l'activité DNasique I du plasma.

Les résultats ainsi classés par âge puis par poids dans chaque sexe, demandent certaines explications : évaluation des moyennes et de leurs écarts standards, comparaison statistique des différences observées. Afin d'éviter un exposé long et fastidieux reprenant les résultats de chaque tableau, nous avons regroupé ces chiffres et leur signification statistique (*) dans le tableau n° 17.

- La première partie de ce tableau rassemble les résultats obtenus à partir des croisements issus de souris femelles de souche C₃H.

- La deuxième, ceux obtenus à partir des croisements issus de souris femelles de souche XLII.

Dans chacune de ces deux parties nous pouvons lire :

- 1^{re} colonne verticale, les croisements effectués, la souris femelle étant indiquée la première.
- 2^e et 3^e colonne, les moyennes et l'écart type de l'ensemble des individus de chaque sexe.

(*) Tous les calculs statistiques ont été effectués par les méthodes exposées dans la première partie (voir p. 33.)

TABLEAUX DE L'ACTIVITE DNAsique NEUTRE
DU PLASMA DES SOURIS C_3H et XLII et de leurs
HYBRIDES $F_1 - F_2$ et BACK CROSS.

oOo

Tableau n° 7.

SEXE ♂

P A R E N T S

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes.	Activité en UK/ml.
1	2 K $\frac{1}{89}$	66	23	0,13
2	2 K $\frac{1}{90}$	-	24	0,11
3	1 M $\frac{4}{45}$	69	25	0,24
4	2 M $\frac{1}{131}$	70	24	0,07
5	2 M $\frac{1}{133}$	-	25	0,10
6	2 K $\frac{1}{133}$	-	25	0,09
7	2 M $\frac{1}{132}$	-	26	0,08
8	2 K $\frac{1}{22}$	71	19	0,13
9	1 K $\frac{4}{40}$	-	22	0,20
10	1 K $\frac{6}{30}$	73	22	0,15
11	2 K $\frac{2}{171}$	-	24	0,09
12	2 K $\frac{2}{172}$	-	26	0,13
13	2 M $\frac{1}{134}$	74	24	0,09
14	2 K $\frac{1}{135}$	-	24	0,07
15	2 K $\frac{1}{134}$	-	24	0,18
16	1 K $\frac{2}{22}$	76	20	0,16
17	1 K $\frac{2}{20}$	-	22	0,20
18	1 K $\frac{2}{21}$	-	23	0,31
19	1 L $\frac{1}{40}$	-	23	0,07
20	1 K $\frac{1}{145}$	-	24	0,08
21	2 K $\frac{1}{30}$	-	24	0,15
22	2 K $\frac{1}{31}$	-	24	0,10
23	2 K $\frac{1}{32}$	-	24	0,10
24	2 K $\frac{1}{46}$	-	25	0,21
25	2 K $\frac{1}{44}$	77	19	0,14

S O U C H E C_3H .

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
26	2K ¹ ₁₅₉	77	24	0,09
27	2K ¹ ₁₆₀	-	24	0,13
28	2K ¹ ₁₆₁	-	25	0,05
29	2K ¹ ₁₅₈	-	26	0,09
30	2K ¹ ₆₃	-	27	0,13
31	2K ¹ ₁₃₄	82	27	0,10
32	1L ² ₁₄	83	23	0,18
33	2K ¹ ₁₁₀	-	26	0,09
34	2K ¹ ₁₀₇	-	27	0,08
35	2K ¹ ₁₁₁	-	27	0,15
36	2K ¹ ₁₁₂	-	27	0,06
37	2K ¹ ₁₉₆	-	27	0,06
38	2M ¹ ₁₂₉	-	27	0,05
39	1M ² ₉₅	99	27	0,25
40	1K ⁴ ₁₉	102	29	0,22
41	1K ⁴ ₃₅	103	23	0,24
42	1K ⁴ ₃₆	-	24	0,08
43	1K ³ ₇₂	111	20	0,30
44	1K ³ ₇₁	-	22	0,03
45	1K ⁵ ₄₈	117	18	0,04
46	1K ⁵ ₄₇	-	24	0,03
47	1K ⁵ ₄₉	-	27	0,12
48	1M ² ₁₁₆	183	30	0,09
49	1M ³ ₇₀	191	31	0,07
50	1M ³ ₃₆	196	31	0,07

Tableau n° 7 (suite)

SEXE ♀

P A R E N T S

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	2 L ¹ ₆₃	67	20	0,10
2	2 L ¹ ₆₂	-	20	0,11
3	2 L ¹ ₆₁	-	20	0,14
4	2 L ¹ ₆₀	-	20	0,10
5	2 K ² ₄₉	68	19	0,10
6	2 K ² ₄₇	-	19	0,10
7	2 K ² ₄₈	-	20	0,07
8	2 L ¹ ₄₃	72	21	0,11
9	2 L ¹ ₄₄	-	22	0,12
10	2 K ¹ ₉₈	73	18	0,24
11	2 K ¹ ₁₉₀	-	20	0,12
12	2 K ¹ ₁₇₃	-	21	0,12
13	2 K ¹ ₁₆₆	-	21	0,14
14	2 M ¹ ₁₇₈	-	21	0,15
15	2 M ¹ ₁₈₅	-	21	0,18
16	2 M ¹ ₁₇₇	-	24	0,14
17	2 L ² ₁₃₈	74	21	0,08
18	2 L ² ₁₅₇	-	21	0,18
19	2 L ² ₁₅₆	-	22	0,10
20	2 L ² ₁₅₅	-	22	0,14
21	2 L ² ₈₃	90	20	0,05
22	2 L ² ₈₆	-	22	0,10
23	2 L ² ₈₇	-	24	0,05
24	2 M ¹ ₁₈₀	104	19	0,05
25	2 M ¹ ₁₈₂	-	19	0,10

S O U C H E C_3H .

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
26	2 M_{183}^1	104	24	0,09
27	2 K_{171}^1	112	19	0,04
28	2 K_{170}^1	-	20	0,07
29	2 K_{172}^1	-	20	0,24
30	1. K_{67}^3	141	20	0,06
31	1 K_{66}^3	-	21	0,07
32	1 K_{65}^3	-	23	0,04
33	1 K_{35}^4	142	20	0,06
34	1 K_{112}^5	147	22	0,08
35	1 K_{107}^5	-	26	0,07
36	1 K_{106}^5	-	28	0,11
37	1 K_{27}^4	148	20	0,03
38	1 K_{24}^4	-	21	0,03
39	1 K_{99}^4	-	23	0,09
40	1 K_{100}^4	-	23	0,09
41	1 K_{30}^4	-	24	0,04
42	1 K_{25}^4	-	24	0,03
43	1 K_{98}^4	-	24	0,15
44	1 K_{43}^4	167	20	0,16
45	1 K_{45}^4	-	23	0,07
46	1 K_{44}^4	-	24	0,22
47	1 K_{39}^3	168	27	0,11
48	1 K_{34}^6	171	25	0,20
49	1 K_{33}^6	-	26	0,14
50	1 K_{32}^6	-	27	0,11

Tableau n° 8.

SENE ♂

P A R E N T S

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes.	Activité en UK/ml.
1	1 A ₅	76	20	0,20
2	1 A ₄	-	20	0,37
3	1 A ₅	-	22	0,31
4	1 A ₅₆	90	15	0,26
5	1 A ₃₉	-	18	0,24
6	1 A ₃₀	-	20	0,24
7	1 A ₆₃	98	18	0,29
8	1 A ₆₂	-	19	0,30
9	1 A ₁₇	107	23	0,28
10	1 A ₂₅	108	20	0,26
11	1 A ₅₄	-	21	0,31
12	1 A ₅₅	110	20	0,65
13	1 A ₃₁	-	21	0,28
14	1 A ₃₂	-	21	0,53
15	1 A ₃₃	-	21	0,57
16	1 A ₃₄	-	24	0,28
17	1 A ₂₅	112	20	0,28
18	2 A ₇	-	20	0,52
19	2 A ₆	-	21	0,21
20	2 A ₃₀	120	22	0,32

S O U C H E X L I I

N°	Idendité	AGE en jours.	POIDS en grammes.	Activité en UK/ml.
21	2 A ₃₁ ⁷	120	23	0,42
22	2 A ₂₆ ⁶	125	22	0,28
23	2 A ₂₅ ⁶	-	22	0,20
24	2 A ₂₄ ⁶	-	22	0,26
25	2 A ₂₃ ⁶	-	23	0,26
26	2 A ₂₁ ⁵	145	23	0,17
27	2 A ₂₂ ³	-	24	0,17
28	2 A ₂₀ ⁵	-	25	0,16
29	2 A ₁₉ ³	-	25	0,22
30	2 A ₁₈ ³	-	25	0,16
31	1 A ₈₇ ⁶	165	27	0,24
32	1 A ₄₇ ³	172	20	0,33
33	1 A ₄₃ ³	-	20	0,32
34	1 A ₄₆ ⁵	-	21	0,32
35	1 A ₄₈ ³	-	21	0,31
36	1 A ₅₀ ³	-	21	0,24
37	1 A ₆₉ ⁵	-	25	0,31
38	1 A ₉₄ ³	174	22	0,26
39	1 A ₉₅ ³	-	23	0,31
40	1 A ₂₈ ²	179	22	0,30

Tableau n° 8 (suite)

SEXE ♀		P A R E N T S		
N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	1 A ₂₁ ¹	73	19	0,38
2	1 R ₃ ³	75	18	0,30
3	1 A ₄ ⁶	83	19	0,37
4	1 A ₂ ⁶	-	19	0,34
5	2 A ₇₇ ³	85	18	0,18
6	2 A ₇₆ ³	-	20	0,22
7	2 A ₅₉ ⁶	93	18	0,17
8	2 A ₆₀ ⁶	-	19	0,20
9	2 A ₈₃ ⁷	96	17	0,22
10	2 A ₈₂ ³	-	19	0,18
11	1 A ₃₀ ³	105	19	0,37
12	1 A ₅₁ ³	-	20	0,37
13	1 A ₄₈ ³	-	21	0,34
14	1 A ₄₉ ⁵	-	22	0,26
15	1 A ₅₂ ³	-	22	0,48
16	2 A ₅₅ ⁶	106	17	0,32
17	2 A ₃₆ ⁶	-	17	0,25
18	2 A ₂₉ ⁷	107	18	0,26
19	2 A ₂₇ ⁷	-	19	0,35
20	2 A ₂₆ ⁷	-	20	0,24

S O U C H E X L I I

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
21	1 A ₄₂ ⁸	107	20	0,49
22	1 A ₇ ¹	125	22	0,32
23	1 A ₆ ¹	-	23	0,31
24	2 A ₃₆ ⁴	133	18	0,21
25	2 A ₃₅ ⁴	-	20	0,32
26	2 A ₇₂ ⁴	-	20	0,26
27	2 A ₆₆ ⁶	141	17	0,24
28	2 A ₆₅ ⁸	-	18	0,24
29	2 A ₆₈ ⁶	-	18	0,35
30	2 A ₆₉ ⁶	-	18	0,21
31	2 A ₁₇₆ ⁶	166	18	0,25
32	1 A ₇₅ ²	167	19	0,18
33	1 A ₇₆ ²	-	19	0,37
34	1 A ₈₂ ²	-	19	0,31
35	1 A ₈₁ ²	-	20	0,35
36	1 A ₇₄ ²	-	22	0,24
37	1 A ₂₂ ²	178	20	0,28
38	1 A ₂₃ ²	-	21	0,28
39	1 A ₂₄ ²	-	21	0,33
40	2 A ₁₆ ⁶	180	20	0,28

SEXE ♂

HYBRIDES F_1 ISSUS DE $Q \times C_3H$.

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	1 H $\frac{5}{39}$	52	23	0,21
2	1 H $\frac{5}{37}$	-	25	0,38
3	1 I $\frac{1}{6}$	57	21	0,16
4	1 I $\frac{1}{10}$	-	22	0,16
5	1 F $\frac{5}{18}$	59	24	0,08
6	1 F $\frac{5}{10}$	-	24	0,17
7	1 G $\frac{1}{84}$	60	21	0,17
8	1 G $\frac{1}{86}$	-	22	0,14
9	1 G $\frac{1}{87}$	-	23	0,19
10	1 G $\frac{1}{85}$	-	24	0,24
11	1 G $\frac{1}{88}$	-	24	0,13
12	1 F $\frac{1}{76}$	-	25	0,18
13	1 E $\frac{1}{3}$	-	25	0,14
14	1 E $\frac{2}{10}$	-	25	0,19
15	1 G $\frac{2}{6}$	-	26	0,24
16	1 G $\frac{2}{5}$	60	27	0,13
17	1 A $\frac{1}{6}$	-	28	0,11
18	1 D $\frac{2}{34}$	65	27	0,35
19	1 D $\frac{2}{53}$	-	28	0,24
20	1 D $\frac{2}{31}$	-	28	0,23
21	1 D $\frac{2}{31}$	-	28	0,32
22	1 C $\frac{2}{26}$	66	26	0,28
23	1 C $\frac{2}{24}$	-	27	0,25
24	1 D $\frac{1}{61}$	67	26	0,21
25	1 D $\frac{1}{63}$	-	26	0,10
26	1 B $\frac{2}{13}$	68	27	0,37
27	1 J $\frac{2}{24}$	70	23	0,16
28	1 H $\frac{2}{55}$	76	26	0,26
29	1 F $\frac{2}{17}$	77	28	0,41
30	1 F $\frac{2}{10}$	-	29	0,16

SEXE ♀

♀ C₃H x ♂ XLII

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes.	Activité en UK/ml.
1	1 G ₇ ²	60	20	0,09
2	1 G ₇ ²	-	21	0,22
3	1 A ₁₆ ¹	-	25	0,16
4	1 D ₃₈ ¹	67	21	0,13
5	1 D ₃₉ ¹	-	21	0,11
6	1 D ₆₀ ¹	-	22	0,14
7	1 C ₅₃ ¹	-	22	0,11
8	1 I ₇ ¹	69	19	0,14
9	1 I ₈ ¹	-	19	0,22
10	1 I ₁ ¹	-	20	0,18
11	1 I ₆ ¹	-	20	0,04
12	1 I ₄ ¹	-	21	0,19
13	1 I ₁ ¹	-	21	0,61
14	1 I ₅ ¹	-	22	0,08
15	1 B ₃₁ ¹	-	25	0,15
16	1 B ₃₀ ¹	-	27	0,13
17	1 H ₆₉ ¹	72	23	0,11
18	1 G ₈₃ ¹	73	20	0,14
19	1 G ₈₁ ¹	-	20	0,11
20	1 G ₈₂ ¹	-	22	0,22
21	1 F ₁₆ ¹	-	22	0,13
22	1 F ₁₇ ¹	-	25	0,16
23	1 E ₁₃ ¹	74	21	0,09
24	1 E ₁₄ ¹	-	23	0,18
25	1 E ₁₂ ¹	-	25	0,16
26	1 J ₁₆ ¹	84	18	0,09
27	1 J ₁₇ ¹	-	20	0,07
28	1 J ₁₇ ¹	-	20	0,15
29	1 J ₁₇ ¹	-	21	0,09
30	1 J ₁₈ ¹	-	21	0,12

SEXE ♂

HYBRIDES F₁ ISSUS DE ♀ XLII

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité UK/r
1	1 K ₃₂ ⁴	61	20	0,11
2	1 P ₆₇ ⁴	62	18	0,27
3	1 P ₆₈ ⁴	-	19	0,20
4	1 P ₆₆ ⁴	-	20	0,16
5	1 S ₅ ⁵	67	22	0,22
6	1 Q ₂₈ ⁵	69	25	0,24
7	1 N ₁₆ ⁴	73	23	0,22
8	1 N ₁₁ ⁴	-	23	0,18
9	1 N ₁₂ ⁴	-	23	0,18
10	1 N ₁₃ ⁴	-	23	0,31
11	1 T ₆₆ ¹	75	24	0,18
12	1 M ₃₉ ⁴	76	21	0,24
13	1 M ₃₇ ⁴	-	21	0,24
14	1 M ₃₆ ⁴	-	21	0,20
15	1 O ₃₁ ⁴	77	21	0,18
16	1 O ₃₀ ⁴	-	21	0,10
17	1 K ₃₂ ³	-	26	0,22
18	1 R ₃₂ ⁴	85	20	0,14
19	1 R ₃₁ ⁴	-	20	0,20
20	1 R ₄₉ ³	-	21	0,25
21	1 S ₃ ⁵	87	25	0,26
22	1 S ₄ ⁵	-	25	0,28
23	1 Q ₂₄ ⁴	90	28	0,26
24	1 M ₁₂₁ ³	110	24	0,19
25	1 M ₂₀ ³	-	26	0,31

♀ XLII x ♂ C₃H

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité UK/ml
26	1 R ₂₈ ²	118	25	0,18
27	1 R ₂₉ ²	-	26	0,22
28	1 Q ₂ ³	124	29	0,31
29	1 Q ₇ ³	-	31	0,22
30	1 Q ₆ ³	-	31	0,27
31	1 T ₃₈ ²	148	29	0,20
32	1 M ₈₀ ²	150	26	0,20
33	1 M ₈₁ ²	-	27	0,18
34	1 L ₆₈ ²	160	31	0,20
35	1 L ₆₉ ²	-	31	0,18
36	1 N ₆₃ ²	161	28	0,18
37	1 O ₄₅ ²	180	28	0,18
38	1 O ₄₆ ²	-	31	0,20
39	1 T ₄₈ ¹	182	25	0,15
40	1 R ₄₉ ¹	184	26	0,14
41	1 R ₄₅ ¹	-	27	0,14
42	1 M ₄₆ ¹	187	29	0,09
43	1 M ₄₇ ¹	-	30	0,12
44	1 Q ₄₇ ¹	188	27	0,19
45	1 Q ₄₃ ¹	-	28	0,08
46	1 S ₂₅ ¹	-	29	0,18
47	1 Q ₄₆ ¹	-	30	0,08
48	1 S ₂₇ ¹	-	31	0,20
49	1 K ₃₃ ¹	194	28	0,19
50	1 K ₃₂ ¹	-	30	0,35

Tableau n° 10 (suite)

HYBRIDES F₁ ISSUS DE ♀ XLII

SEXE ♀

N°	Identité	AGE en jours.	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	1 O ₄₁ ⁶	60	18	0,11
2	1 O ₁₂ ⁶	-	19	0,24
3	1 O ₉ ⁶	-	21	0,16
4	1 T ₄₄ ⁶	75	20	0,11
5	1 P ₆₀ ⁴	80	18	0,20
6	1 P ₂₂ ⁴	-	18	0,20
7	1 P ₂₃ ⁴	-	18	0,22
8	1 P ₆₅ ⁴	-	18	0,22
9	1 P ₂₄ ⁴	-	19	0,26
10	1 P ₆₁ ⁴	-	20	0,21
11	1 R ₄₈ ³	85	18	0,37
12	1 R ₄₅ ³	-	19	0,24
13	1 R ₄₆ ³	-	19	0,27
14	1 R ₄₇ ³	-	19	0,27
15	1 S ₂ ²	87	21	0,23
16	1 Q ₂₃ ⁴	90	24	0,16
17	1 Q ₉ ²	101	21	0,11
18	1 Q ₁₀ ²	-	22	0,37
19	1 Q ₂₁ ²	-	22	0,36
20	1 M ₃₅ ⁴	106	17	0,20
21	1 M ₃₄ ⁴	-	18	0,35
22	1 M ₃₃ ³	-	20	0,30
23	1 O ₂₆ ⁴	107	19	0,30
24	1 O ₂₉ ⁴	-	19	0,30
25	1 L ₁₅ ⁴	-	20	0,21

♀ XLII x ♂ C₃H

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
26	1 O ₂₈ ⁴	107	20	0,22
27	1 M ₄₅ ³	110	20	0,21
28	1 M ₄₆ ³	-	20	0,17
29	1 M ₄₈ ³	-	20	0,27
30	1 Q ₅ ³	117	25	0,11
31	1 L ₄₅ ³	138	19	0,18
32	1 L ₄₄ ³	-	20	0,28
33	1 L ₄₂ ³	-	22	0,26
34	1 T ₅₄ ²	165	21	0,20
35	1 T ₅₆ ²	-	21	0,22
36	1 T ₅₇ ²	-	22	0,16
37	1 T ₅₅ ²	-	22	0,21
38	1 K ₃₀ ⁴	177	22	0,18
39	1 K ₃₁ ⁴	-	22	0,25
40	1 N ₂₅ ⁴	178	27	0,14
41	1 S ₄₈ ²	179	21	0,17
42	1 O ₄₀ ²	181	23	0,24
43	1 O ₄₁ ²	-	23	0,28
44	1 O ₃₉ ²	-	25	0,34
45	1 O ₄₄ ²	-	28	0,28
46	1 T ₄₇ ⁴	182	22	0,22
47	1 R ₄₀ ⁴	184	23	0,15
48	1 R ₉ ⁴	-	25	0,18
49	1 M ₃ ⁴	186	22	0,14
50	1 L ₃ ⁴	191	24	0,17

Tableau n°11

HYBRIDES F₂ ISSUS DE ♀ C₃H

SEXE ♂

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	2 A ₅₄ ¹	agouti	52	21	0,12
2	2 A ₅₅ ²	agouti	-	21	0,14
3	2 A ₅₂ ²	agouti	-	24	0,16
4	2 A ₄₅ ³	gris	60	22	0,32
5	2 C ₈₆ ¹	agouti	-	22	0,10
6	2 C ₉₁ ¹	gris	-	24	0,15
7	2 C ₈₇ ¹	fauve	-	26	0,17
8	2 J ₃₁ ⁴	fauve	67	23	0,24
9	2 J ₃₂ ⁴	agouti	-	25	0,16
10	2 J ₃₄ ⁴	agouti	-	26	0,34
11	2 J ₃₅ ⁴	agouti	-	28	0,35
12	2 J ₃₃ ⁴	agouti	-	29	0,50
13	2 J ₃₉ ²	agouti	73	22	0,16
14	2 J ₃₈ ²	beige	-	23	0,08
15	2 J ₃₇ ²	gris	-	24	0,12
16	2 J ₄₀ ²	fauve	-	27	0,29
17	2 J ₃₆ ¹	beige	93	24	0,25
18	2 A ₄₅ ¹	gris	-	25	0,26
19	2 A ₄₇ ¹	agouti	-	25	0,22
20	2 A ₄₄ ¹	gris	-	26	0,11
21	2 A ₄₆ ¹	beige	-	27	0,18
22	2 J ₃₃ ¹	beige	-	27	0,18
23	2 J ₃₇ ¹	agouti	-	28	0,15
24	2 J ₄₃ ¹	agouti	-	28	0,36
25	2 J ₃₂ ¹	gris	-	30	0,18

♀ F₁(♀ C₃H) × ♂ F₁(♀ C₃H)

SEXE ♀

N°	Identité	Couleur.	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	2 J ₁₁ ⁵	gris	60	18	0,19
2	2 J ₁₂ ⁵	agouti	-	18	0,16
3	2 E ₂₁ ¹	beige	-	18	0,16
4	2 J ₁₃ ⁵	fauve	-	20	0,12
5	2 E ₁₂ ¹	beige	-	21	0,15
6	2 A ₅₀ ²	gris	65	20	0,29
7	2 A ₄₆ ²	agouti	-	20	0,38
8	2 A ₅₁ ²	agouti	-	20	0,20
9	2 A ₄₅ ²	agouti	-	21	0,24
10	2 A ₄₄ ²	agouti	-	21	0,31
11	2 J ₃₀ ⁶	fauve	67	18	0,31
12	2 J ₂₇ ⁶	agouti	-	19	0,41
13	2 J ₂₉ ⁶	gris	-	20	0,22
14	2 J ₂₈ ⁶	gris	-	22	0,22
15	2 J ₂₆ ⁶	fauve	-	23	0,09
16	2 J ₃₅ ²	beige	73	17	0,09
17	2 J ₃₄ ²	gris	-	21	0,28
18	2 J ₃₃ ²	agouti	-	22	0,14
19	2 J ₃₆ ²	agouti	-	22	0,15
20	2 A ₄₁ ¹	fauve	93	19	0,19
21	2 A ₄₀ ¹	agouti	-	21	0,48
22	2 A ₄₂ ¹	agouti	-	23	0,03
23	2 J ₄₈ ¹	agouti	-	24	0,15
24	2 J ₄₉ ¹	agouti	-	25	0,13
25	2 J ₅₀ ¹	agouti	-	25	0,14

Tableau n° 12.

SEXE ♂

HYBRIDES F₂ ISSUS DE ♀ XLIII

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	2 P ₁₁ ²	beige	70	24	0,23
2	2 P ₁₀ ²	fauve	-	27	0,22
3	2 P ₁₀ ²	beige	-	28	0,09
4	2 P ₁₀ ²	agouti	-	28	0,28
5	2 O ₄ ¹	fauve	79	27	0,20
6	2 M ₂₁ ²	agouti	81	25	0,44
7	2 M ₂₂ ³	agouti	-	26	0,19
8	2 M ₂₃ ³	agouti	-	28	0,40
9	2 P ₁₂ ²	agouti	82	24	0,14
10	2 L ₆₅ ²	agouti	96	27	0,22
11	2 L ₆₄ ²	fauve	-	27	0,26
12	2 L ₆₆ ²	agouti	-	30	0,08
13	2 L ₆₇ ²	agouti	-	30	0,39
14	2 M ₅₉ ²	agouti	98	30	0,26
15	2 P ₂₅ ¹	fauve	109	29	0,37
16	2 P ₂₆ ¹	agouti	-	30	0,26
17	2 S ₁₇ ¹	agouti	110	25	0,22
18	2 S ₁₉ ¹	gris	-	29	0,13
19	2 O ₁₂ ¹	gris	-	29	0,32
20	2 O ₁₃ ¹	beige	-	29	0,28
21	2 L ₃₈ ¹	gris	-	30	0,23
22	2 S ₁₀ ¹	fauve	-	30	0,18
23	2 L ₃₇ ¹	agouti	-	31	0,24
24	2 O ₁₆ ¹	agouti	-	31	0,05
25	2 M ₆ ¹	fauve	112	27	0,41

SENE Q

♀ F₁ (♀ XLII) x F₁ (♂ XLII)

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	2 M ₁₉ ³	gris	69	17	0,15
2	2 M ₁₆ ³	fauve	-	19	0,24
3	2 M ₁₇ ³	fauve	-	21	0,52
4	2 M ₁₈ ³	agouti	-	22	0,12
5	2 P ₈ ²	gris	70	21	0,20
6	2 P ₉ ²	agouti	-	21	0,64
7	2 L ₆₁ ¹	fauve	86	22	0,30
8	2 L ₆₃ ²	agouti	-	22	0,41
9	2 O ₂ ²	fauve	-	25	0,20
10	2 O ₁ ²	agouti	-	25	0,15
11	2 M ₅₆ ²	gris	88	19	0,41
12	2 M ₅₆ ²	agouti	-	21	0,25
13	2 Q ₃₀ ¹	fauve	108	23	0,18
14	2 P ₂₄ ¹	fauve	109	22	0,11
15	2 P ₂₂ ¹	agouti	-	23	0,35
16	2 P ₂₃ ¹	beige	-	24	0,22
17	2 S ₁₅ ¹	gris	110	20	0,16
18	2 L ₃₄ ¹	agouti	-	22	0,16
19	2 O ₈ ¹	beige	-	23	0,14
20	2 L ₃₅ ¹	agouti	-	23	0,46
21	2 S ₁₆ ¹	agouti	-	24	0,15
22	2 L ₃₆ ¹	agouti	-	25	0,15
23	2 M ₅ ¹	beige	112	21	0,31
24	2 M ₁ ¹	gris	-	22	0,22
25	2 M ₂ ¹	agouti	-	24	0,03

Tableau n° 13

BACK-CROSS C₃H
RETOUR AU MALE

SEXE ♂

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes.	Activité en UK/ml
1	bc A ⁴ ₈₂	60	17	0,15
2	bc A ¹ ₅	-	22	0,07
3	bc A ¹ ₆	-	23	0,16
4	bc A ¹ ₇	-	24	0,08
5	bc J ¹ ₇₀	-	24	0,41
6	bc A ¹ ₁₆	63	23	0,11
7	bc A ¹ ₁₇	-	23	0,07
8	bc A ¹ ₁₅	-	24	0,16
9	bc A ¹ ₈₅	65	19	0,15
10	bc A ¹ ₈₆	-	19	0,20
11	bc A ¹ ₈₇	-	19	0,22
12	bc A ¹ ₈₄	-	23	0,17
13	bc J ² ₄₉	73	24	0,07
14	bc J ² ₄₃	-	24	0,09
15	bc J ³ ₅₁	-	25	0,05
16	bc J ² ₅₆	-	25	0,06
17	bc J ³ ₂₄	79	23	0,12
18	bc J ³ ₂₃	-	25	0,08
19	bc J ³ ₂₃	-	29	0,05
20	bc J ¹ ₇₂	94	25	0,18
21	bc J ¹ ₇₄	-	25	0,18
22	bc J ¹ ₇₀	-	25	0,24
23	bc J ¹ ₇₁	-	26	0,15
24	bc J ¹ ₇₅	-	27	0,09
25	bc J ¹ ₇₃	-	27	0,18

SEXE ♀

♀ F₁ (♀ C₃H) x ♂ C₃H

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	bc A $\frac{1}{2}$	60	18	0,06
2	bc A $\frac{1}{4}$	-	19	0,05
3	bc A $\frac{1}{4}$	-	19	0,10
4	bc A $\frac{1}{3}$	-	19	0,11
5	bc J' $\frac{1}{27}$	-	21	0,14
6	bc J' $\frac{1}{29}$	-	21	0,39
7	bc J' $\frac{1}{28}$	-	23	0,20
8	bc A" $\frac{1}{20}$	65	20	0,08
9	bc A" $\frac{1}{9}$	-	21	0,06
10	bc A" $\frac{1}{10}$	-	21	0,09
11	bc J $\frac{2}{46}$	73	19	0,03
12	bc J $\frac{2}{47}$	-	20	0,13
13	bc J $\frac{2}{44}$	-	21	0,05
14	bc J $\frac{2}{43}$	-	21	0,07
15	bc J $\frac{2}{43}$	-	21	0,07
16	bc J $\frac{2}{42}$	-	22	0,06
17	bc J $\frac{3}{18}$	79	18	0,08
18	bc J $\frac{3}{19}$	-	20	0,04
19	bc J $\frac{3}{13}$	-	20	0,04
20	bc J $\frac{3}{16}$	-	20	0,09
21	bc J $\frac{3}{17}$	-	21	0,08
22	bc J $\frac{3}{21}$	-	21	0,17
23	bc J $\frac{3}{20}$	-	22	0,44
24	bc J $\frac{1}{69}$	94	19	0,08
25	bc J $\frac{1}{68}$	-	22	0,15

Tableau n° 14

BACK-CROSS C₃H
RETOUR A LA FEMELLE

SEXE ♂

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	bc Q $\frac{0}{43}$	62	24	0,12
2	bc L $\frac{3}{41}$	72	20	0,07
3	bc O $\frac{1}{42}$	-	21	0,11
4	bc L $\frac{3}{44}$	-	24	0,11
5	bc L $\frac{3}{43}$	-	25	0,05
6	bc L $\frac{3}{45}$	-	27	0,07
7	bc L $\frac{3}{42}$	-	27	0,03
8	bc S $\frac{0}{22}$	74	21	0,16
9	bc S $\frac{0}{19}$	-	24	0,20
10	bc S $\frac{0}{21}$	-	26	0,14
11	bc S $\frac{0}{18}$	-	26	0,09
12	bc S $\frac{0}{23}$	-	27	0,22
13	bc O $\frac{0}{14}$	77	30	0,26
14	bc L $\frac{0}{4}$	87	27	0,22
15	bc P $\frac{1}{55}$	-	28	0,07
16	bc P $\frac{1}{57}$	-	28	0,21
17	bc P $\frac{1}{56}$	-	29	0,07
18	bc Q $\frac{1}{20}$	97	29	0,15
19	bc Q $\frac{1}{21}$	-	29	0,16
20	bc L $\frac{1}{52}$	98	27	0,18
21	bc L $\frac{1}{51}$	-	30	0,22
22	bc O $\frac{1}{45}$	99	29	0,14
23	bc O $\frac{1}{47}$	-	30	0,16
24	bc O $\frac{1}{46}$	-	30	0,18
25	bc P $\frac{1}{59}$	113	28	0,14

SEXE ♀

♀ C₃H x ♂ F₁ (♀ XLII)

N°	Identité	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	bc Q $\frac{2}{11}$	62	20	0,05
2	bc Q $\frac{2}{12}$	-	22	0,08
3	bc Q $\frac{2}{14}$	-	25	0,11
4	bc P $\frac{2}{1}$	65	18	0,14
5	bc P $\frac{2}{2}$	-	20	0,04
6	bc P $\frac{2}{3}$	-	20	0,08
7	bc O $\frac{2}{11}$	70	24	0,07
8	bc O $\frac{2}{12}$	-	25	0,22
9	bc S $\frac{1}{15}$	74	19	0,15
10	bc S $\frac{1}{16}$	-	20	0,20
11	bc S $\frac{1}{17}$	-	23	0,14
12	bc L $\frac{2}{1}$	87	22	0,08
13	bc L $\frac{2}{8}$	-	26	0,05
14	bc S $\frac{2}{25}$	93	25	0,30
15	bc L $\frac{1}{30}$	-	26	0,14
16	bc L $\frac{1}{49}$	-	26	0,03
17	bc O $\frac{1}{44}$	94	24	0,06
18	bc O $\frac{1}{43}$	-	25	0,18
19	bc S $\frac{1}{22}$	-	25	0,11
20	bc S $\frac{1}{24}$	-	27	0,12
21	bc S $\frac{1}{23}$	-	27	0,18
22	bc P $\frac{1}{33}$	97	21	0,04
23	bc P $\frac{1}{34}$	-	22	0,08
24	bc Q $\frac{1}{17}$	-	22	0,10
25	bc Q $\frac{1}{18}$	-	25	0,08

Tableau n° 15

BACK-CROSS XLII

RETOUR AU MALE

SEXE ♂

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	bc p ₃₀ ²	agouti	66	22	0,48
2	bc p ₃₅ ²	beige	-	23	0,44
3	bc p ₃₄ ²	jaune	-	23	0,34
4	bc p ₃₂ ²	fauve	-	24	0,44
5	bc p ₂₈ ²	agouti	-	26	0,16
6	bc m ₃₈ ²	agouti	78	25	0,21
7	bc m ₄₀ ²	beige	-	26	0,18
8	bc m ₃₇ ²	agouti	-	29	0,07
9	bc m ₃₉ ²	beige	-	31	0,37
10	bc l ₃₄ ¹	fauve	96	25	0,18
11	bc l ₃₃ ¹	gris	-	27	0,44
12	bc l ₃₂ ¹	gris	-	28	0,21
13	bc r ₁₅ ¹	gris	97	25	0,22
14	bc r ₁₆ ¹	beige	-	26	0,20
15	bc p ₇ ¹	agouti	98	26	0,35
16	bc p ₆ ¹	fauve	-	26	0,37
17	bc p ₈ ¹	beige	-	30	0,39
18	bc m ₃₈ ¹	agouti	99	27	0,18
19	bc m ₄₀ ¹	gris	-	28	0,32
20	bc m ₃₇ ¹	beige	-	30	0,78
21	bc m ₃₉ ¹	agouti	-	32	0,19
22	bc t ₆₃ ¹	beige	105	28	0,25
23	bc t ₆₄ ¹	agouti	-	30	0,11
24	bc t ₆₂ ¹	gris	-	30	0,31
25	bc t ₆₇ ¹	fauve	117	27	0,27

SEXE ♀

♀ F₁ (♀ XLII) x ♂ XLII

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	bc l ² ₁₉	beige	59	17	0,37
2	bc l ² ₁₈	beige	-	18	0,37
3	bc l ² ₂₀	fauve	-	19	0,23
4	bc r ² ₄₇	beige	71	20	0,09
5	bc r ² ₄₈	gris	-	20	0,30
6	bc p ² ₂₄	fauve	72	18	0,10
7	bc m ² ₃₄	gris	-	19	0,29
8	bc p ² ₂₇	fauve	-	19	0,24
9	bc p ² ₂₆	gris	-	20	0,16
10	bc p ² ₂₅	gris	-	20	0,13
11	bc m ² ₃₆	agouti	-	22	0,32
12	bc m ² ₃₅	gris	-	24	0,19
13	bc l ¹ ₂₈	agouti	96	19	0,34
14	bc l ¹ ₂₉	agouti	-	22	0,14
15	bc l ¹ ₂₇	beige	-	23	0,38
16	bc r ¹ ₁₄	beige	97	21	0,28
17	bc r ¹ ₁₀	agouti	-	21	0,33
18	bc r ¹ ₁₃	fauve	-	22	0,28
19	bc r ¹ ₉	gris	-	22	0,27
20	bc p ¹ ₃	fauve	98	21	0,64
21	bc p ¹ ₂	gris	-	21	0,21
22	bc p ¹ ₁	beige	-	22	0,20
23	bc m ¹ ₃₅	agouti	99	24	0,36
24	bc t ¹ ₆₁	gris	105	20	0,31
25	bc t ¹ ₆₀	agouti	-	20	0,03

Tableau n° 16.

BACK-CROSS XLII

SEXE ♂

RETOUR A LA ♀ XLII

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml.
1	bc j ¹ ₇₆	fauve	60	18	0,25
2	bc j ¹ ₇₇	beige	-	18	0,31
3	bc j ¹ ₇₅	agouti	-	19	0,15
4	bc j ¹ ₄	agouti	64	23	0,24
5	bc a ¹ ₉₁	agouti	65	21	0,18
6	bc a ¹ ₉₄	fauve	-	22	0,09
7	bc j ¹ ₉₇	gris	-	22	0,16
8	bc j ¹ ₉₉	gris	-	22	0,17
9	bc a ¹ ₉₆	gris	-	22	0,21
10	bc a ¹ ₉₅	agouti	-	22	0,46
11	bc j ¹ ₉₈	agouti	-	23	0,12
12	bc a ¹ ₉₀	agouti	-	25	0,10
13	bc j ¹ ₅₅	beige	81	18	0,12
14	bc j ² ₇₄	fauve	-	19	0,18
15	bc a ² ₆₄	fauve	-	20	0,06
16	bc j ² ₇₃	gris	-	20	0,09
17	bc j ² ₇₅	gris	-	20	0,11
18	bc j ² ₅₆	gris	-	20	0,14
19	bc j ² ₅₈	gris	-	20	0,32
20	bc j ² ₇₁	agouti	-	22	0,07
21	bc j ² ₅₇	gris	-	22	0,15
22	bc a ² ₆₅	gris	-	24	0,20
23	bc a ² ₆₃	agouti	-	27	0,14
24	bc j ² ₅₂	beige	84	20	0,25
25	bc j ² ₅₄	fauve	-	22	0,28

SEXE ♀

♀ XLII x ♂ F₁ (♀ C₃H)

N°	Identité	Couleur	AGE en jours	POIDS en grammes	Activité en UK/ml
1	bc j ¹ ₄	gris	65	19	0,09
2	bc j ¹ ₃	agouti	-	19	0,15
3	bc j ¹ ₂	agouti	-	20	0,38
4	bc j ¹ ₇₄	gris	66	15	0,25
5	bc j ¹ ₇₃	agouti	-	16	0,16
6	bc a ¹ ₈₈	fauve	-	16	0,16
7	bc j ¹ ₇₂	fauve	-	16	0,26
8	bc j ¹ ₇₄	agouti	-	18	0,10
9	bc a ¹ ₉₃	agouti	-	19	0,16
10	bc j ³ ₅₇	beige	67	16	0,18
11	bc j ³ ₅₉	agouti	-	18	0,16
12	bc j ³ ₅₁	agouti	-	18	0,18
13	bc j ³ ₅₆	gris	-	18	0,28
14	bc j ³ ₆₀	gris	-	19	0,42
15	bc a ² ₇₇	fauve	79	19	0,16
16	bc j ² ₆₉	agouti	80	17	0,19
17	bc j ² ₆₈	fauve	-	18	0,09
18	bc j ² ₅₃	beige	-	18	0,16
19	bc j ² ₆₆	fauve	-	18	0,22
20	bc j ² ₆₇	fauve	-	18	0,34
21	bc j ² ₅₄	beige	-	19	0,12
22	bc a ² ₆₁	beige	-	19	0,16
23	bc j ² ₄₇	agouti	-	20	0,29
24	bc j ² ₄₈	agouti	83	21	0,10
25	bc j ³ ₅₂	beige	84	15	0,26

- La 4e colonne exprime, par les signes (-) pour négatif et (+) pour positif, les différences statistiquement significatives.
- La 5e colonne donne pour chaque génération, le nombre d'animaux étudiés, les moyennes et l'écart type de l'ensemble des individus sans tenir compte de leur sexe et de l'éventuelle signification des différences statistiques.

- La troisième partie du tableau résume l'ensemble des résultats obtenus pour chaque génération. La première colonne verticale, par l'exposé des différences statistiques, compare les générations entre elles selon le sens du croisement : Nous pouvons par exemple conclure de la première colonne horizontale que la différence est hautement significative - +++ - entre la souche C_3H et la souche XLII et que, de plus, leur écart standard est aussi statistiquement différent ; de la deuxième colonne horizontale que la différence entre les moyennes n'est statistiquement pas significatives pour les mâles et pour l'ensemble de la génération, mais qu'elle devient très significative si on compare les activités des femelles F_1 issues de femelles C_3H à celles des femelles F_1 issues de femelles XLII. Enfin, et pour cette même colonne horizontale, la comparaison des variances révèle des valeurs statistiquement différentes.

Dans la deuxième colonne verticale de cette troisième partie se trouvent les moyennes générales et deux fois la valeur de l'erreur standard de la génération sans tenir compte des différences éventuellement significatives soit entre les sexes dans une même série, soit entre les séries.

MOYENNES ET VARIATIONS DE L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLEASIQUE I DU PLASMA
DES SOURIS C₃H ET XLII, DE LEURS HYBRIDES F₁ F₂ ET BACK-CROSS

1 ^{ère} Partie					2 ^{ème} Partie					SERIE ♀ XLII					3 ^{ème} Partie				
SERIE ♀ C ₃ H																			
Générations ♀ x ♂	♂	♀	Différence des moyennes et des variances entre les sexes ①	Normale d'erreur	Moyennes ♀ + ♂						♂	♀	Différence des moyennes et des variances entre les sexes ①	Normale d'erreur	Moyennes ♂ + ♀	Différence des moyennes et des variances entre chaque série ①	Moyennes générales $\bar{x} \pm 2\sigma_m$		
PARENTS $\bar{x}$ C ₃ H . C ₃ H 6	0,122	0,101	—	100	0,111						0,293	0,290	—	80	0,291	++ +	C ₃ H 0,171 ± 0,012		
	0,067	0,052	—		0,060						0,106	0,075	+		0,092	+	XLII 0,291 ± 0,016		
HYBRIDES $\bar{x}$ F ₁ C ₃ H . XLII 6	0,206	0,144	+	60	0,175						0,204	0,220	—	100	0,212	— + +	0,198 ± 0,012		
	0,084	0,096	—		0,091						0,056	0,060	—		0,062	+			
HYBRIDES $\bar{x}$ F ₂ F ₁ . F ₁ 6	0,211	0,209	—	50	0,210						0,223	0,249	—	50	0,236	—	0,223 ± 0,022		
	0,099	0,107	—		0,103						0,102	0,139	—		0,121	—			
Back Cross $\bar{x}$ C ₃ H 6 (Retour aux C ₃ H)	0,143	0,118	—	50	0,129						0,144	0,113	—	51	0,128	— +	0,129 ± 0,015		
	0,077	0,098	—		0,086						0,060	0,064	—		0,062	+			
Back Cross $\bar{x}$ XLII 6 XLII . F ₁ 6 (Retour aux XLII)	0,174	0,200	—	50	0,188						0,298	0,264	—	51	0,286	++	0,235 ± 0,019		
	0,092	0,087	—		0,089						0,146	0,120	—		0,133	+			

① Les différences statistiquement significatives entre les deux sexes ou entre les deux séries de croisement sont relevées par le signe +

CHAPITRE II.

REPRESENTATIONS GRAPHIQUES

A partir des résultats exposés dans les tableaux du chapitre précédent et afin de les imager, nous avons tracé les diagrammes de leur distribution - Fig. n° 2 à n° 7.

A chaque colonne de ces diagrammes correspond l'ensemble des résultats obtenus dans la génération, pour un écart d'activité allant de deux en deux centièmes d'unité KURNICK par ml. Ainsi, sur la figure n° 2, nous avons vingt et un animaux dont l'activité DNasique I de leur plasma est de 0,09 ou de 0,10 UK/ml. Lorsque la différence entre les sexes n'est pas significative, nous représentons en trait plein la répartition de l'ensemble de la génération et en pointillé, uniquement celle des femelles ; lorsque la différence entre les sexes est significative, c'est-à-dire uniquement pour les hybrides F_1 issus de femelle C_3H - Fig. n° 4, diagramme supérieur - le trait plein ne correspond qu'au sexe mâle, le pointillé au sexe femelle.

Enfin, la figure n° 8 réunit, comme le faisait pour les moyennes la deuxième colonne verticale de la troisième partie du tableau n° 17, l'ensemble de nos résultats. Sur ce diagramme, nous n'avons différencié soit les sexes - pour les hybrides F_1 - soit les séries - pour les Back Cross XLII - que lorsque les différences étaient statistiquement significatives.

A côté de chaque diagramme, nous rappelons le nombre d'animaux étudiés, les moyennes, l'écart type et l'erreur standard pour l'ensemble et pour chaque sexe.

En résumé, nous obtenons les résultats suivants :

1° - La souche C_3H - fig. n° 2 - a une activité moyenne de $\bar{x} \pm 2\sigma_m$ = $0,111 \pm 0,012$ UK/ml avec une dispersion relativement peu importante ; les différences d'activité entre les sexes ne sont statistiquement pas significatives ($t = 1,75$).

2° - La souche XLII - Fig. n° 3 - a une activité moyenne de $\bar{x} \pm 2\sigma_m = 0,291 \pm 0,018$ UK/ml, avec une dispersion légèrement plus importante que la précédente ce qui peut s'expliquer par les différences existant dans la valeur du coefficient d'imbreding d'une souche à l'autre. Les différences d'activité entre les sexes ne sont pas significatives ($t < 0,1$).

3° - La génération F_1 - Fig. n° 4 - fournit une répartition homogène autour d'une moyenne intermédiaire entre celle des souches parentales : $\bar{x} \pm 2\sigma_m = 0,198 \pm 0,012$ UK/ml. Toutefois, dans la série C_3H , nous relevons une différence significative entre les mâles et les femelles ($t = 2,66$). Cette différence est encore plus significative si on compare les femelles de cette même série à celles F_1 issues de femelle XLII - ($t = 3,9$) - ; enfin, l'activité est semblable pour les mâles dans chaque série.

4° - La génération des hybrides F_2 - Fig. n° 5 - fournit une dispersion beaucoup plus importante qu'en F_1 , sans que l'on puisse réellement relever une ségrégation des caractères. La moyenne d'activité, pour l'ensemble de la génération, est $\bar{x} \pm 2\sigma_m = 0,223 \pm 0,022$ UK/ml. Aucune différence n'existe dans cette génération ni entre les sexes ($t < 0,1$) pour la série C_3H et ($t = 0,22$) pour la série XLII, ni selon le sens des croisements ($t = 1,15$) - pour l'ensemble de chaque génération et ($t = 1,15$) si on compare les femelles de chaque série entre elles.

5° - Les croisements de retour aux parents C_3H ou Back Cross C_3H - Fig. n° 6 - ne possèdent aucune différence significative entre les sexes dans chaque série ; $t = 1,75$ pour la série XLII, et $t = 1$ pour la série C_3H , et révèlent une activité moyenne globale de $\bar{x} \pm 2\sigma_m = 0,129 \pm 0,015$ UK/ml. Cette moyenne d'activité et sa dispersion, comparées à celles des hybrides F_1 , représente un net retour de l'activité vers celle de la souche de retour ; la seule différence relevée entre les variances de chaque série est à la limite de la signification statistique.

6° - Les croisements de retour aux parents XLII ou Back Cross XLII - Fig. n° 7 - ont une activité moyenne de $\bar{x} \pm 2\sigma_m = 0,235 \pm 0,019$ UK/ml ce qui, pris globalement, représente par rapport à la génération F_1 un retour beaucoup moins rapide vers la souche parentale que dans le cas précédent avec en plus une dispersion relativement importante. Cette moyenne et sa dispersion ne représentent pas la vraie figure du phénomène étant donné la différence hautement significative existant entre les Back Cross XLII retour au mâle, et les Back Cross XLII retour à la femelle - $t = 4,03$. Les premiers ont une activité voisine de celle de la souche XLII, les derniers une activité semblable à celle des hybrides F_1 .

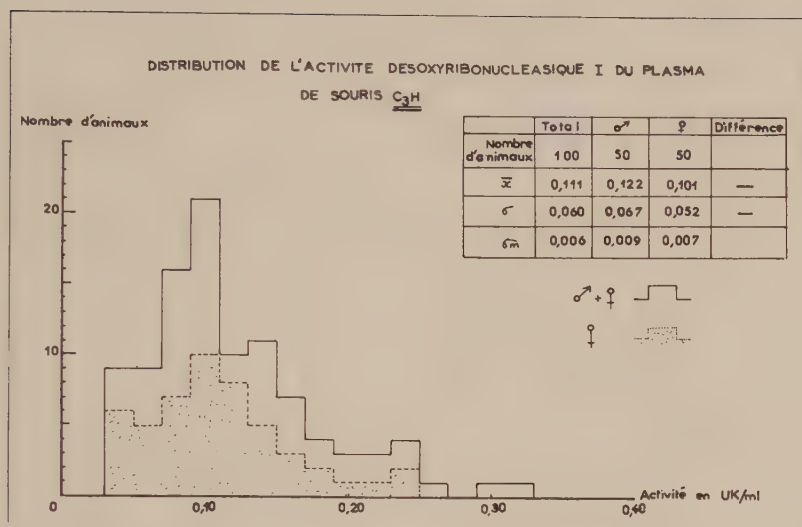


FIGURE N° 2

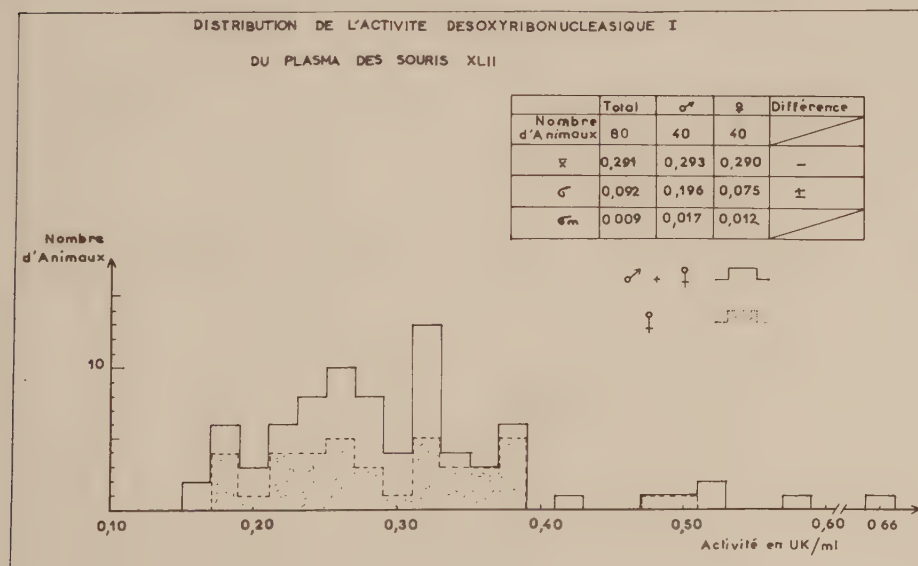


FIGURE N° 3

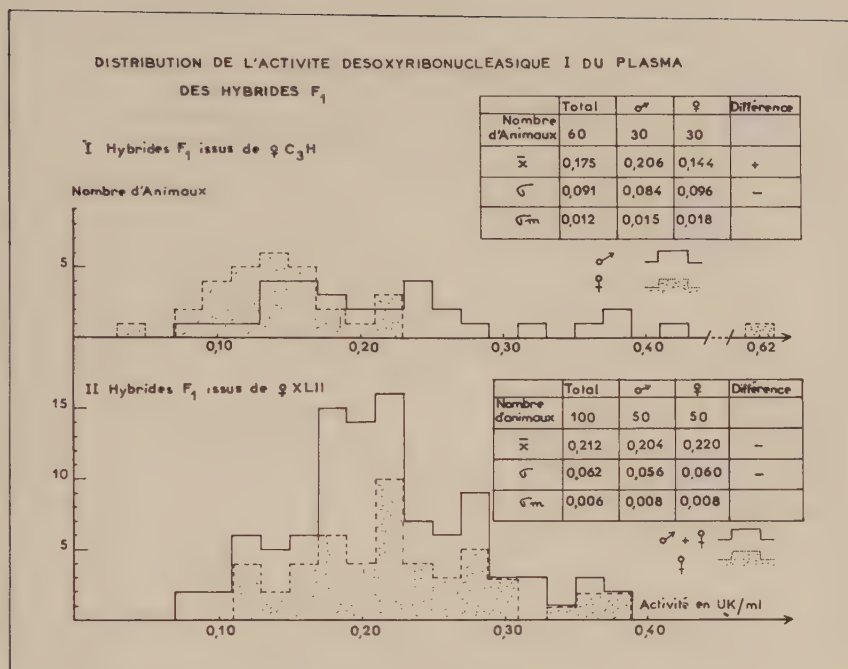


FIGURE N° 4

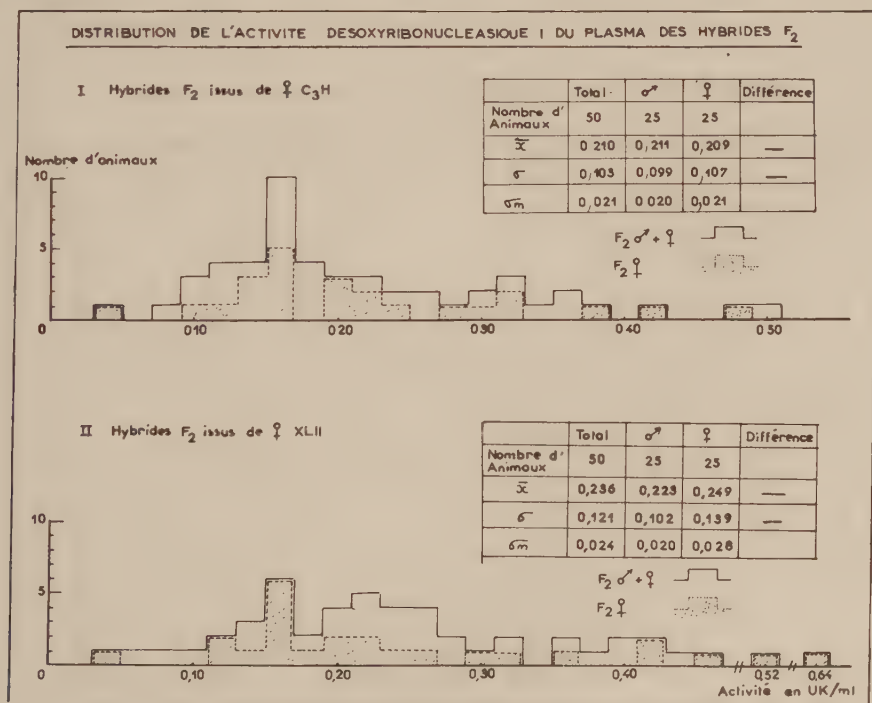


FIGURE N° 5

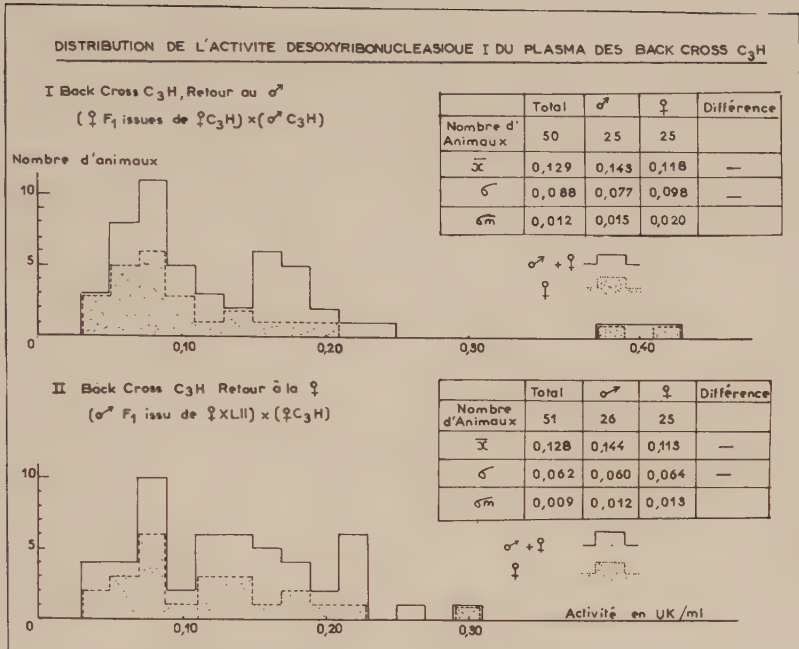


FIGURE N° 6

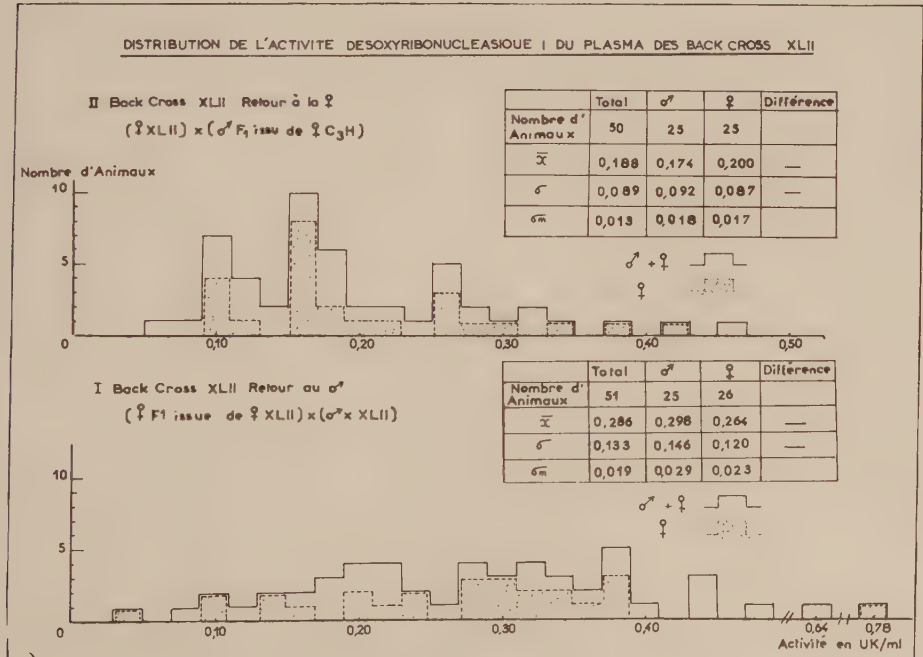


FIGURE N° 7

Aucune différence statistiquement significative n'existe entre les sexes dans chaque série d'accouplement - $t = 0,24$ pour le retour au mâle XLII, et $t = 0,55$ pour le retour à la femelle XLII -.

oOo

CHAPITRE III.

REMARQUES SUR LE CONDITIONNEMENT GENETIQUE DE LA COULEUR DU PELAGE CHEZ LES SOURIS DE SOUCHES XLII et C_3H .

I. - INTRODUCTION

=====

Hans GRÜNEBERG dans son important traité sur la génétique de la souris écrit : "La souris domestique est le mammifère dont la génétique fut la plus intensément étudiée. Dans les premiers jours du Mendélisme, la grande variété des couleurs de la souris FANCY apportait un matériel utile sur lequel la validité des nouvelles lois pouvait être évaluée et les interactions des facteurs étudiés (44)". De fait, de très nombreux auteurs se sont attachés à étudier entre autres facteurs anatomiques, physiologiques ou biologiques héréditaires, le conditionnement génétique de la couleur du pelage de cet animal très répandu au laboratoire. Il n'est pas de notre ressort d'entreprendre une étude approfondie de ce problème dans le cadre des souches de souris que nous avons employées, d'autant que, si l'une des souches utilisées, la XLII, n'est pas encore homologuée, c'est que l'on ne connaît pas, actuellement, les gènes responsables de la couleur de son pelage. Toutefois, il nous paraît utile de signaler les faits relevés à ce sujet, ne serait-ce que pour savoir si les gènes de couleur et ceux responsables de l'activité DNAsique neutre du plasma sont ou ne sont pas liés, c'est-à-dire sont ou ne sont pas situés sur le ou les mêmes chromosomes.

II. - TRANSMISSION DE LA COULEUR DU PELAGE DANS LES

=====

CROISEMENTS DES SOUCHES XLII et C_3H .

=====

Si nous reprenons la description des souches utilisées et des hybrides obtenus par leur croisement successif (voir p. 6), nous pouvons remarquer les caractères suivants :

La souche C_3H a un pelage de couleur agouti composé d'ailleurs de la superposition de cinq gènes (31) (64) - Ay : jaune, gène

létal à l'état homozygote (52) (91). - Aw : agouti au ventre blanc - A⁺ : agouti au ventre gris, - a^t : noir et tané - a : noir - et la souche XLII a un pelage de couleur beige dont les gènes responsables ne sont pas encore connus.

Le croisement C₃H x XLII donne, quelque soit le sexe, un hybride au pelage agouti.³ En F₂ on constate non seulement les deux couleurs parentales mais aussi l'apparition de deux nouvelles couleurs que nous avons appelées : Fauve et Gris.

Les croisements "Back Cross" fournissent un pelage agouti par retour à la souche parentale C₃H, et les quatre couleurs décrites en F₂ par retour à la souche parentale XLII. Le tableau n° 18 résume pour l'ensemble de notre élevage la répartition des quatre phénotypes ci-dessus décrits :

Tableau n° 18 - Répartition de la couleur du pelage dans les générations F₂ et Back Cross XLII

	Agouti	Fauve	Gris	Beige
F ₂	179	60	77	24
Back Cross XLII	60	53	58	49

Admettons que la couleur de chacune des souches soit définie par deux couples de gènes que nous appellerons AA et BB pour les gènes dominants et aa et bb pour les gènes récessifs, la souche C₃H aura une composition chromosomique AA - BB, et la souche XLII aa - bb, puisque les parents élevés en pure imbreeding sont considérés comme homozygotes.

Tous les individus F₁ posséderont un génotype Aa - Bb dont le phénotype dépend du caractère dominant, ici le caractère agouti. En F₂, selon la deuxième loi de MENDEL, il y aura ségrégation des caractères et nous obtiendrons les phénotypes suivants : 9/16 AB - 3/16 aB - 3/16 Ab - 1/16 ab dont les phénotypes sont ici respectivement Agouti, Fauve, Gris et Beige. Et, par un test-Cross, c'est-à-dire en croisant les hybrides F₁ par le double récessif - ici la souche XLII - nous obtiendrons les génotypes et la répartition suivants : 1 AB + 1 aB + 1 Ab + 1 ab.

Si nous comparons la répartition de ces couleurs dans les générations F₂ et Back Cross à la répartition théorique ci-dessus décrite, nous¹ obtenons, pour le test χ^2 , les valeurs suivantes :
génération F₂ : $\chi^2 = 4,19$ - Back Cross : $\chi^2 = 1,24$.

Or la limite de signification donnée par les tables de PEARSON est, pour trois degrés de liberté, $\chi^2 = 7,81$. Ce test fournit donc des valeurs hautement significatives pour les deux générations. Il est donc vraisemblable de penser qu'en ce qui concerne la couleur du pelage, l'équipement chromosomique des souches XLII et C₃H ne diffère que par deux couples de gènes.

III. - RAPPORT EVENTUEL DES GENES DE COULEUR AVEC =====

L'ACTIVITE DNAsique NEUTRE DU PLASMA. =====

Certains gènes, peuvent porter deux ou plusieurs informations phénotypiques différentes ; ainsi il n'existe pas une catégorie séparée de gènes de couleur, et la plupart d'entre eux apportent en plus de la couleur du pelage, des informations phénotypiques à des organes aussi différents que le labyrinthe, les organes hématopoïétiques ... etc (44). Il est bien évident qu'étant donné le grand nombre de chromosomes relevés chez la souris de laboratoire - $2n = 40$ - (117) et la complexité des informations génétiques, la probabilité pour que l'un des gènes responsables de la couleur porte en plus une information sur l'activité DNAsique du plasma est pratiquement nulle. Toutefois, sans être portées par deux gènes alléliques, couleur du pelage et activité DNAsique peuvent dépendre d'un même groupe de linkage parmi les treize groupes jusqu'ici dénombrés.

C'est donc dans le but de rechercher un éventuel rapport entre les gènes de couleur et ceux responsables de l'activité DNAsique neutre du plasma que nous avons classé les activités en fonction de la couleur - Tableau n° 19.

A partir de ces résultats, nous effectuons un test d'homogénéité. Pour la génération F_2 , on obtient le rapport $\frac{U_f}{U_r} = 0,56$ avec 3 et 96 degrés de liberté. Pour la génération Back Cross, le même rapport pour 3 et 97 degrés de liberté est $\frac{U_f}{U_r} = 1,78$; or, les tables de SNEDECOR donnent, pour 3 et 100 $\frac{U_f}{U_r}$ degrés de liberté, une valeur limite de signification égale à 2,70. Les différences observées entre chaque couleur ne sont donc pas statistiquement significatives. Dans ces conditions, nous ne pouvons conclure sinon que, dans l'état actuel de nos recherches, il ne semble exister aucune liaison entre les transmissions héréditaires de l'activité DNAsique neutre du plasma et de la couleur du pelage des souris de souche XLII et C₃H, ou, plus explicitement, que les gènes de couleur et ceux responsables de l'activité DNAsique n'appartiennent pas au même groupe de linkage.

TABEAU N° 19

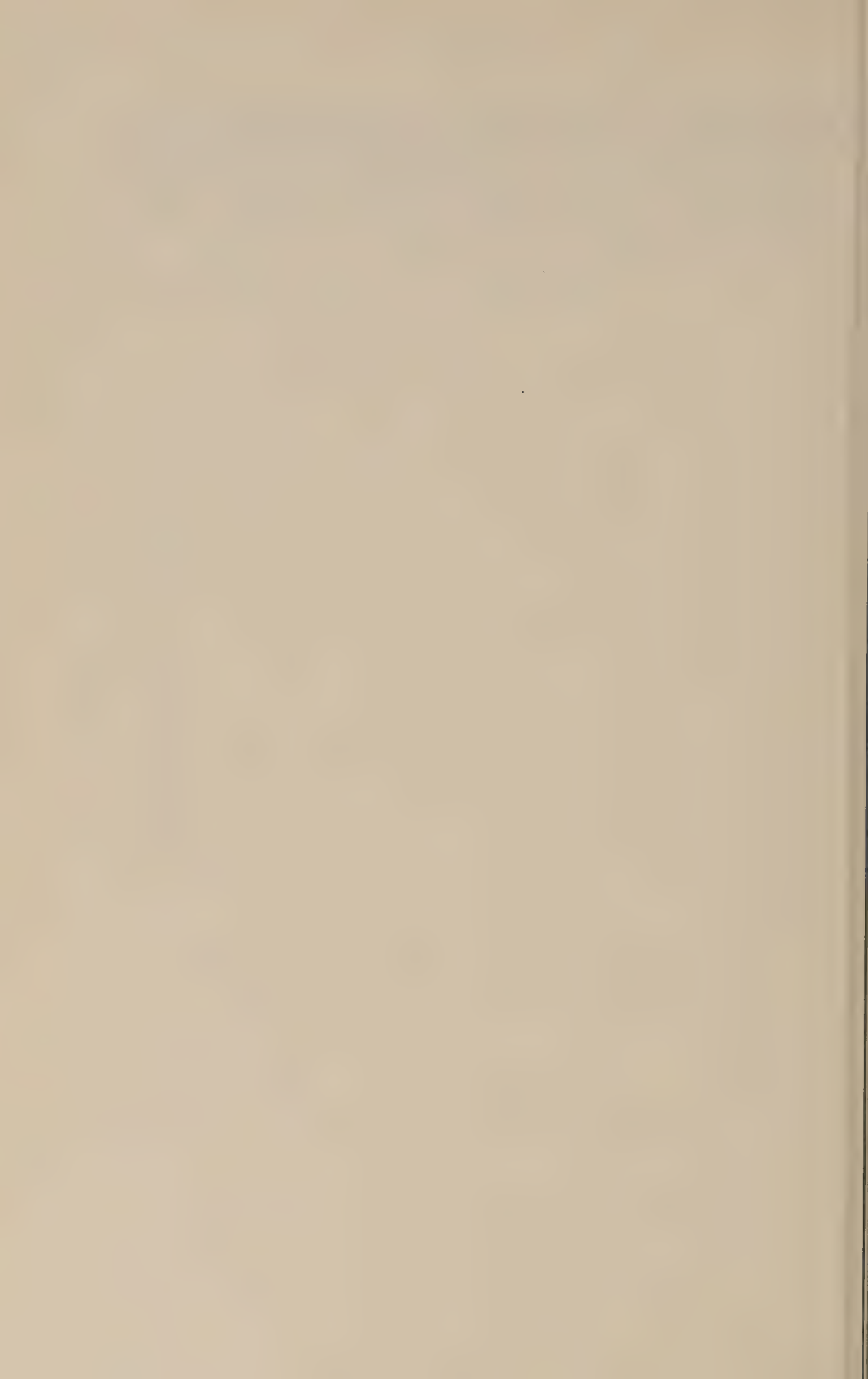
ACTIVITE DNASIQUE I PLASMATIQUE EN FONCTION DE LA COULEUR
DU PELAGE DANS LES GENERATIONS F₂ ET BACK CROSS XLII

	Agouti	Fauve	Gris	Beige
F ₂	Nombre de souris	20	19	12
	Moyenne d'activité (1) $\bar{x} \pm 2\sigma_m$	0,247 $\pm$ 0,047	0,218 $\pm$ 0,059	0,181 $\pm$ 0,045
Back Cross XLII	Nombre de souris	22	26	21
	Moyenne d'activité (1) $\bar{x} \pm 2\sigma_m$	0,249 $\pm$ 0,054	0,228 $\pm$ 0,036	0,279 $\pm$ 0,065

(1) - L'activité est exprimée en Unité Kurnick par ml.

REMARQUE - Dans le tableau n° 19 la proportion des souris pour chaque couleur ne suit pas la distribution observée et décrite dans le tableau n° 18. De fait, en vue d'obtenir un nombre suffisant d'évaluations dans chaque couleur afin d'en comparer les moyennes, nous avons été amenés à doser l'activité DNAsique dans chaque couleur sur un nombre sensiblement égal de souris.

oOo



CHAPITRE IV.

DISCUSSION ET CONCLUSION.

L'observation de l'ensemble de ces résultats - Fig. n° 8 - nous montre :

- 1° - Une différence hautement significative de l'activité DNasique I plasmatique entre les souches parentales XLII (0,29 UK/ml) et C_3H (0,11 UK/ml) - $t = 15,05$.
- 2° - En génération F_1 , une activité moyenne (0,19 UK/ml) intermédiaire de celle des souches parentales. L'ensemble de cette génération n'est pas homogène, une différence significative existant entre les F_1 femelles provenant d'une femelle C_3H et d'une part les mâles de la même série, d'autre part les femelles issues de mère XLII.
- 3° - En F_2 , une activité moyenne (0,22 UK/ml) voisine de celle des hybrides F_1 avec une dispersion beaucoup plus importante. La génération est homogène ; on n'y observe aucune ségrégation statistiquement apparente dans la répartition de l'activité DNasique.
- 4° - Une répartition homogène des back-cross C_3H , que l'individu F_1 provienne ou non d'une femelle XLII, et un retour très sensible de l'activité moyenne de cette génération (0,13 UK/ml) vers celle de la souche de retour (C_3H : 0,11 UK/ml).
- 5° - Une dissociation importante de l'activité selon le sens du croisement chez les back cross XLII, aucune différence significative n'étant relevée entre les sexes dans chaque série :

- Lorsque l'hybride F_1 croisé avec la souche XLII provient d'une femelle XLII, l'activité moyenne de la génération est égale à celle de la souche de retour (0,29 UK/ml dans les deux cas). La répartition de l'ensemble est très étalée, la valeur de l'écart type ($\sigma = 0,13$) étant voisine de celle obtenue en F_2 ($\sigma = 0,12$).

- Lorsque l'hybride croisé avec la souche XLII est un mâle F_1 issu de femelle C_3H , l'activité moyenne (0,19 UK/ml) reste égale à celle de la génération F_1 (0,20 UK/ml).

Si nous limitons notre observation aux moyennes de l'ensemble des générations F_1 et F_2 et à leur répartition, les faits montrent le conditionnement génétique de l'activité DNasique I plasmatique chez les souris XLII et C_3H et leurs hybrides. En effet, en croisant une souche d'activité faible (C_3H), avec une souche à forte activité (XLII), nous obtenons des hybrides F_1 dont l'activité est intermédiaire avec une répartition homogène, puis des hybrides F_2 dont l'activité moyenne est sensiblement la même que celle des hybrides F_1 avec une répartition beaucoup plus étalée. Dans ces conditions, l'absence de ségrégation obtenue en génération F_2 s'expliquerait par la présence d'un système polygénique contrôlant cette activité : son net retour vers celle de la souche parentale chez les back cross C_3H sans dominance ou récessivité dans l'un ou l'autre des systèmes, confirmerait l'éventualité du seul contrôle polygénique de l'activité.

Toutefois, cette hypothèse ne peut suffire à résoudre l'ensemble du problème, certains faits restant inexpliqués, et plus précisément les différences hautement significatives observées d'une part entre les femelles F_1 issues de mère C_3H et le reste de la génération, d'autre part entre les back cross XLII suivant le sens du croisement. Aussi, ces différences suggèrent-elles l'une des hypothèses suivantes :

- une modification phénotypique intervenant durant la grossesse ou transmise par l'allaitement.
- la liaison au sexe de l'un des gènes responsables de l'activité DNasique.
- la présence d'un facteur cytoplasmique héréditaire.

Il y a deux manières d'envisager la première hypothèse : la mère XLII apporterait un activateur du système DNA-DNase, mais on ne voit pas très bien, dans ces conditions, pourquoi le mâle F_1 de la série C_3H aurait une activité semblable aux hybrides F_1 de la série XLII puisque leurs mères sont de souches différentes, ni surtout, pourquoi l'activité des back cross XLII retour à la femelle reste faible alors que leur mère posséderait un facteur activateur.

- la mère C_3H apporterait un inhibiteur, mais alors, comment expliquer :

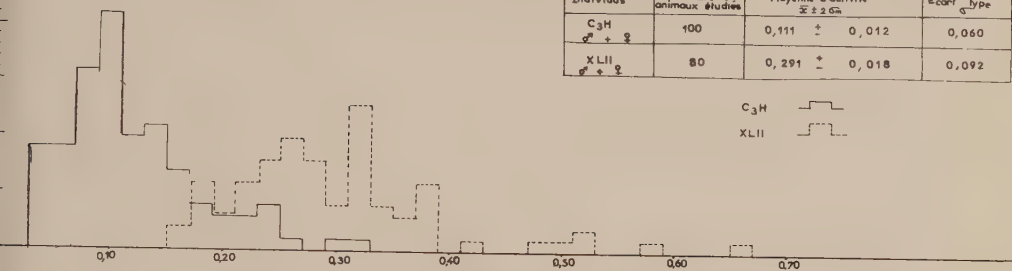
. 1 - La différence observée entre les sexes chez les hybrides F_1 de la série C_3H qui proviennent et sont nourris par la même mère.

. 2 - celle observée entre les séries chez les back cross XLII qui ne sont jamais en contact ni avec une mère C_3H , ni avec une femelle F_1 issue de mère C_3H .

DISTRIBUTION DE L'ACTIVITE DESOXYRIBONUCLÉASIQUE I DU PLASMA DES SOURIS C₃H ET XLII
ET DE LEURS HYBRIDES F₁, F₂ ET BACK CROSS

PARENTS

ORE
AUX

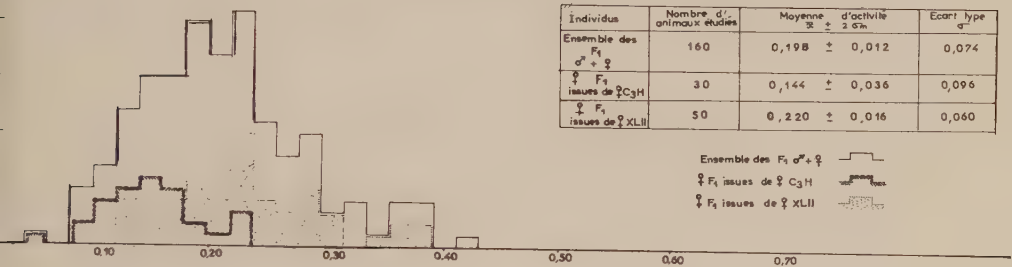


Individus	Nombre d' animaux étudiés	Moyenne d'activité $\bar{x} \pm 2\sigma$	Ecart type σ
C ₃ H $\sigma^2 + \varnothing$	100	0,111 $\pm$ 0,012	0,060
XLII $\sigma^2 + \varnothing$	80	0,291 $\pm$ 0,018	0,092

C₃H

XLII

HYBRIDES F₁



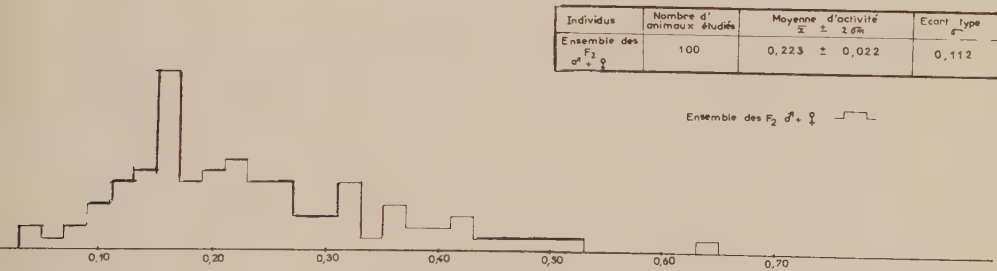
Individus	Nombre d' animaux étudiés	Moyenne d'activité $\bar{x} \pm 2\sigma$	Ecart type σ
Ensemble des F ₁ $\sigma^2 + \varnothing$	160	0,198 $\pm$ 0,012	0,074
$\varnothing$ F ₁ issues de $\varnothing$ C ₃ H	30	0,144 $\pm$ 0,036	0,096
$\varnothing$ F ₁ issues de $\varnothing$ XLII	50	0,220 $\pm$ 0,016	0,060

Ensemble des F₁ $\sigma^2 + \varnothing$

$\varnothing$ F₁ issues de $\varnothing$ C₃H

$\varnothing$ F₁ issues de $\varnothing$ XLII

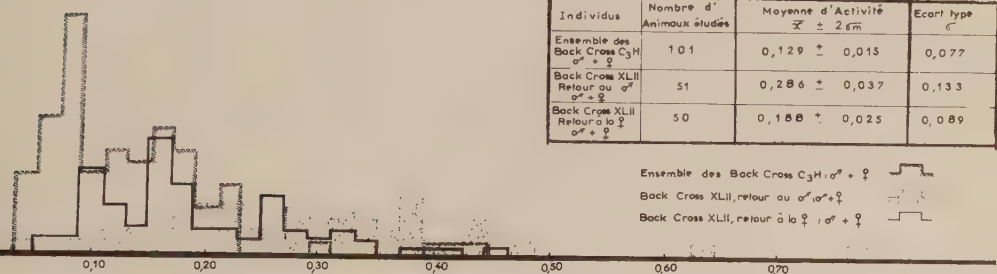
HYBRIDES F₂



Individus	Nombre d' animaux étudiés	Moyenne d'activité $\bar{x} \pm 2\sigma$	Ecart type σ
Ensemble des F ₂ $\sigma^2 + \varnothing$	100	0,223 $\pm$ 0,022	0,112

Ensemble des F₂ $\sigma^2 + \varnothing$

BACK - CROSS



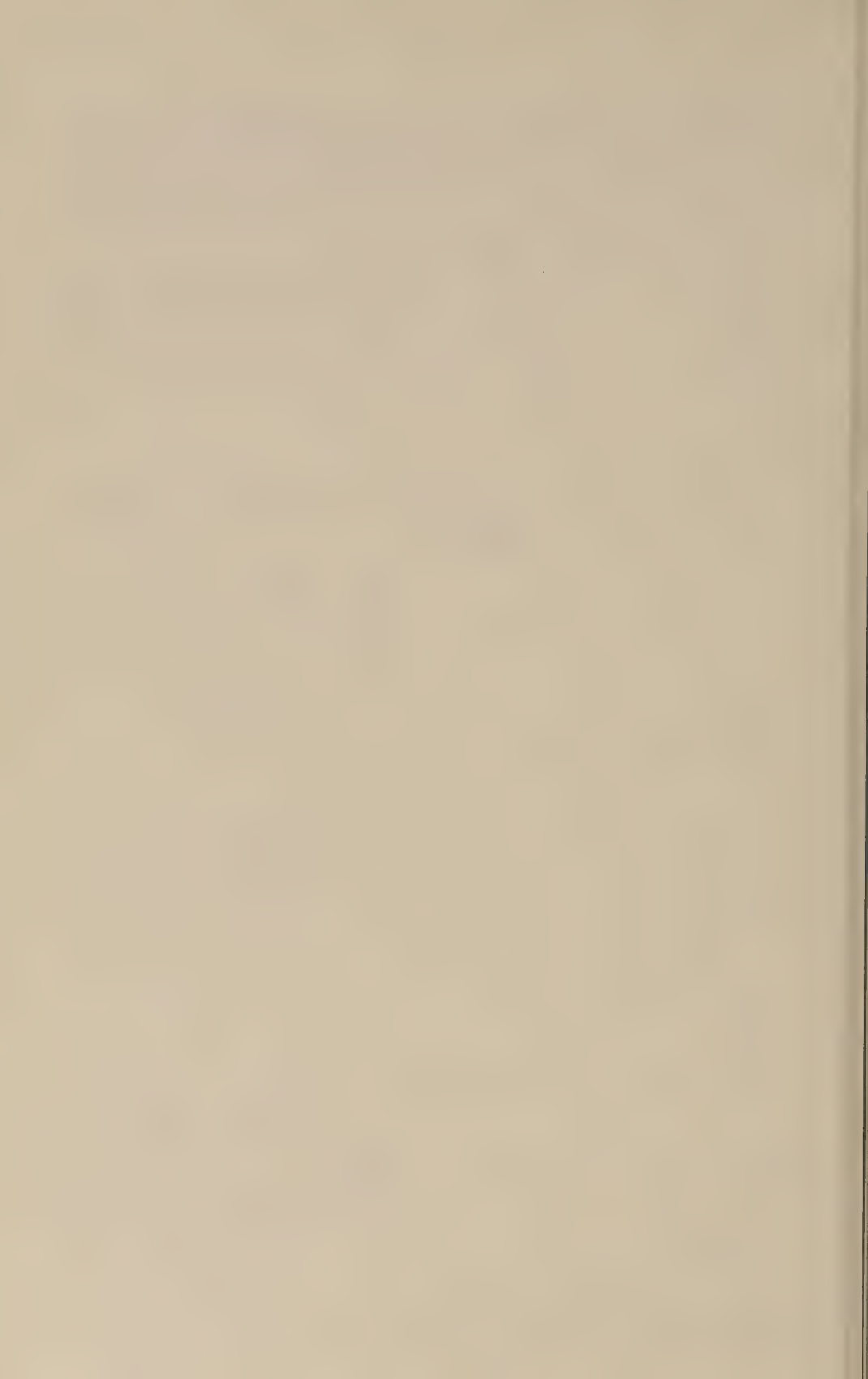
Individus	Nombre d' Animaux étudiés	Moyenne d'Activité $\bar{x} \pm 2\sigma$	Ecart type σ
Ensemble des Back Cross C ₃ H $\sigma^2 + \varnothing$	101	0,129 $\pm$ 0,015	0,077
Back Cross XLII Retour au σ^2 $\sigma^2 + \varnothing$	51	0,286 $\pm$ 0,037	0,133
Back Cross XLII Retour à la $\varnothing$ $\sigma^2 + \varnothing$	50	0,188 $\pm$ 0,025	0,089

Ensemble des Back Cross C₃H $\sigma^2 + \varnothing$

Back Cross XLII, retour au σ^2 $\sigma^2 + \varnothing$

Back Cross XLII, retour à la $\varnothing$ $\sigma^2 + \varnothing$

ACTIVITE en UK/ml



. 3 - l'absence de différence entre les deux séries de back cross C_3H , alors que seule l'une d'elles provient et est nourrie par une mère C_3H .

Néanmoins, afin de déterminer d'une manière définitive l'absence de modifications phénotypiques transmises par l'allaitement, il serait intéressant d'effectuer l'expérience d'allaitement croisé décrite entre autres par KHANOLKAR et Coll. (67) en alimentant dès leur naissance, les hybrides F_1 de la série C_3H par une mère XLII et vice versa.

A la lumière des travaux de RIOU, montrant chez le rat Wistar une différence hautement significative entre les sexes de l'activité DNAsique I du plasma (106) l'éventuelle liaison au sexe de l'un ou de l'ensemble des gènes responsables de cette activité chez la souris - par exemple, gènes répresseurs portés par le chromosome X de la souche C_3H - est à envisager. Pourtant, pour les souches considérées, cette hypothèse paraît encore peu vraisemblable puisque, comme nous venons de le rappeler, aucune différence n'est relevée entre les sexes chez les souches parentales, et de plus, la bipartition de l'activité obtenue en F_1 ne s'effectue pas en bloc selon le sens du croisement.

Les différences statistiques précédemment relevées peuvent encore suggérer l'interférence au niveau du phénotype d'un facteur cytoplasmique héréditaire. Bien que le mécanisme de l'hérédité cytoplasmique ne soit pas encore bien élucidé, plusieurs exemples ont déjà été décrits chez les végétaux (8) (12), la Drosophile (87)(96) (101), tout dernièrement chez la souris (110). Aussi peut-on envisager la présence d'un facteur répresseur présent dans le cytoplasme de la souche C_3H , et transmissible uniquement aux femelles.

Dans ce cas, on aurait bien et une activité faible des femelles F_1 de la série C_3H , celles-ci possédant le facteur cytoplasmique, et un retour homogène de l'activité vers celle de la souche parentale dans le cas des back cross C_3H , le répresseur étant apporté dans les croisements effectués par la femelle F_1 ou par la femelle C_3H .

Par contre, dans ces conditions, le mâle F_1 ne possédant pas le répresseur, rien n'empêcherait l'activité des back cross XLII retour à la femelle de "remonter" à celle de la souche XLII ; or nous avons vu que leur activité moyenne reste celle d'une génération F_1 . Envisager que ce facteur est aussi transmissible au mâle, laisserait inexpliquée la différence significative relevée entre les sexes chez les hybrides F_1 de la série C_3H . Ainsi, les hypothèses émises ne parviennent pas à expliquer l'ensemble des résultats obtenus. Nous avons donc été amené à supposer que tout se passait comme s'il existait à l'état latent, un facteur cytoplasmique répresseur transmissible uniquement par le cytoplasme de la femelle C_3H .

Celui-ci mis en contact avec un génome XLII se fixerait dans le cytoplasme des hybrides mâles et femelles et se transmettrait dans les générations futures quel que soit le sexe. De plus, il ne révélerait son activité répressive sur la DNase I plasmatique qu'en présence d'un chromosome X de la souche XLII - X^{XLII}

En se reportant au tableau n° 20 qui résume, dans les croisements effectués, la répartition de ce facteur cytoplasmique parallèlement à celle des chromosomes sexuels, et en suivant cette distribution, on observe bien :

1° - que chez les hybrides F_1 , seules les femelles provenant d'une mère C_3H possèdent en même temps le facteur cytoplasmique et le chromosome X^{XLII} . Ici l'activité est donc réprimée.

2° - qu'en génération F_2 , selon la répartition du facteur cytoplasmique et du chromosome X^{XLII} , on doit obtenir une suite continue de l'activité - faible pour les individus possédant ces deux facteurs - mâles

$(X^{XLII} Y^{XLII} (+)) (*)$ - , et femelles $(X^{C_3H} Y^{XLII} (+))$ - ou

pour ceux reproduisant le génome C_3H - femelles $(X^{C_3H} X^{C_3H} (+))$ et

mâles $(X^{C_3H} Y^{C_3H} (-))$ - intermédiaire pour ceux dont le génome

est hétérozygote et qui ne possèdent pas le facteur cytoplasmique ou le chromosome X^{XLII} - mâles $(X^{XLII} Y^{C_3H} (-))$ et $(X^{C_3H} Y^{XLII} (+))$

femelles $(X^{XLII} X^{C_3H} (-))$ - forte pour les homozygotes XLII ne possédant pas le répresseur cytoplasmique - femelles $(X^{XLII} X^{XLII} (-))$.

Etant donné la sensibilité et la fidélité de la méthode de dosage employée, ces différences ne peuvent apparaître d'une manière significative dans les résultats que nous donnons. Nous pouvons tout de même remarquer que, conformément à cette distribution, l'activité la plus faible se trouve chez les femelles F_2 de la série C_3H et la plus forte chez les femelles F_2 de la série XLII.

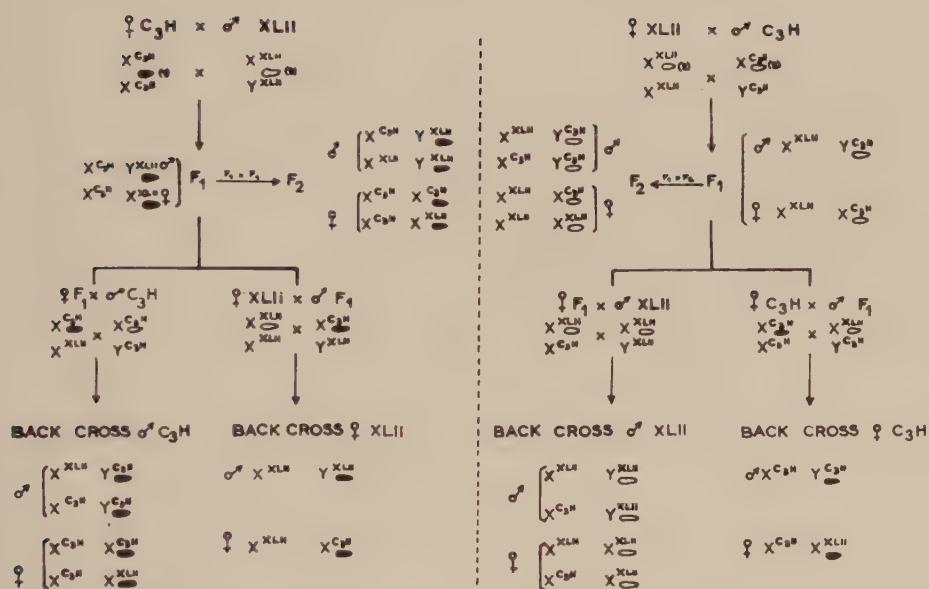
3° - que chez les back cross C_3H , l'activité doit "redescendre" vers celle de souche de retour puisque soit le génome des individus est homozygote C_3H , soit chez ces hétérozygotes, le chromosome X^{XLII} est en présence du facteur cytoplasmique.

4° - que chez les back cross XLII retour au mâle, l'activité doit "remonter" vers celle de la souche de retour puisqu'en aucun cas le facteur cytoplasmique n'est présent.

(*) - (•) = Présence du facteur cytoplasmique.

- (-) = Absence du facteur cytoplasmique.

TABLEAU N° 20

(1) $\ominus$ Le Cytoplasme de l'individu contient le facteur cytoplasmique répresseur de l'activité(2) $\ominus$ Le Cytoplasme de l'individu ne contient pas le facteur cytoplasmique

REPARTITION DES CHROMOSOMES SEXUELS ET DU FACTEUR CYTOPLASMIQUE

AU COURS DES CROISEMENTS SUCCESSIFS

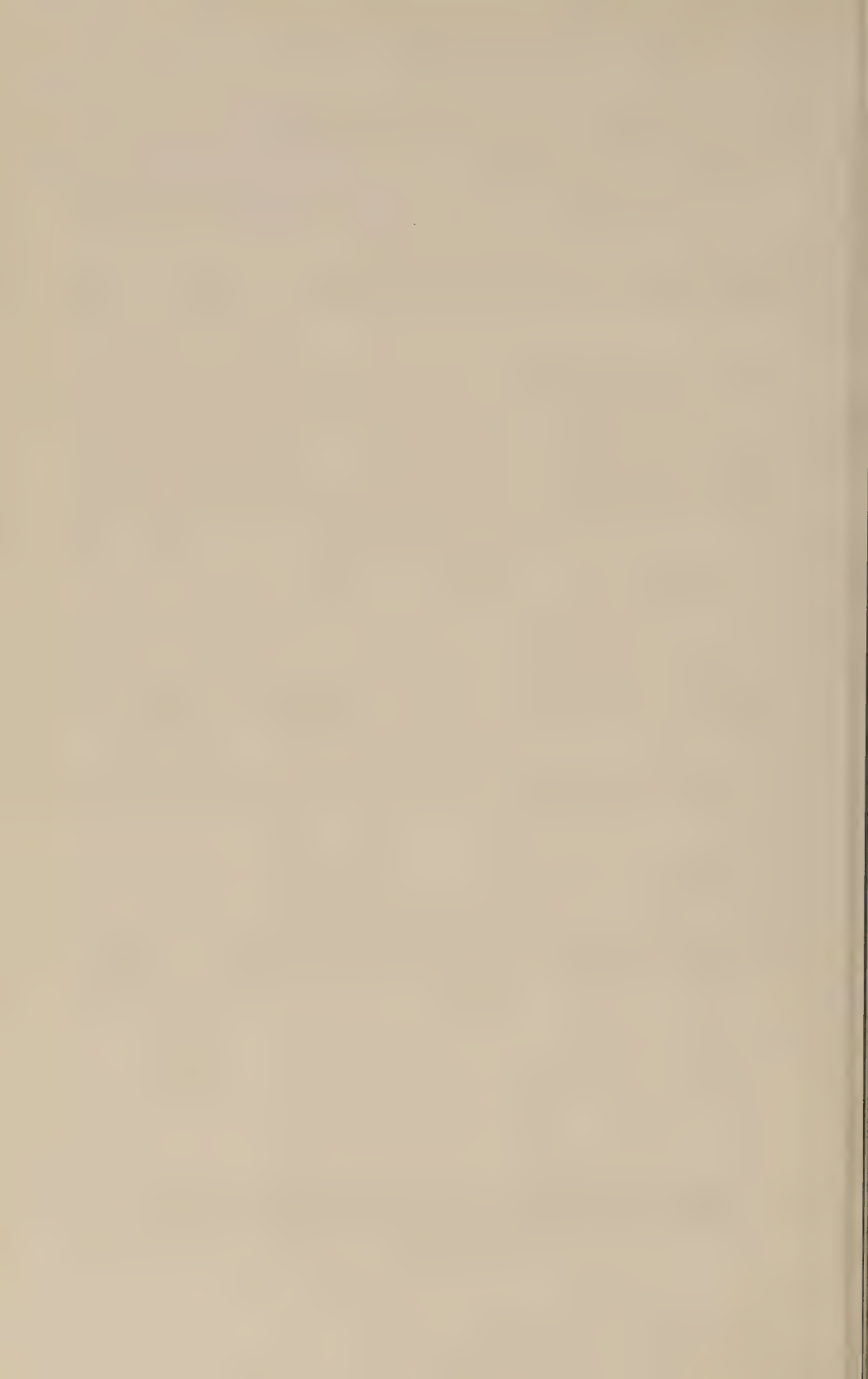
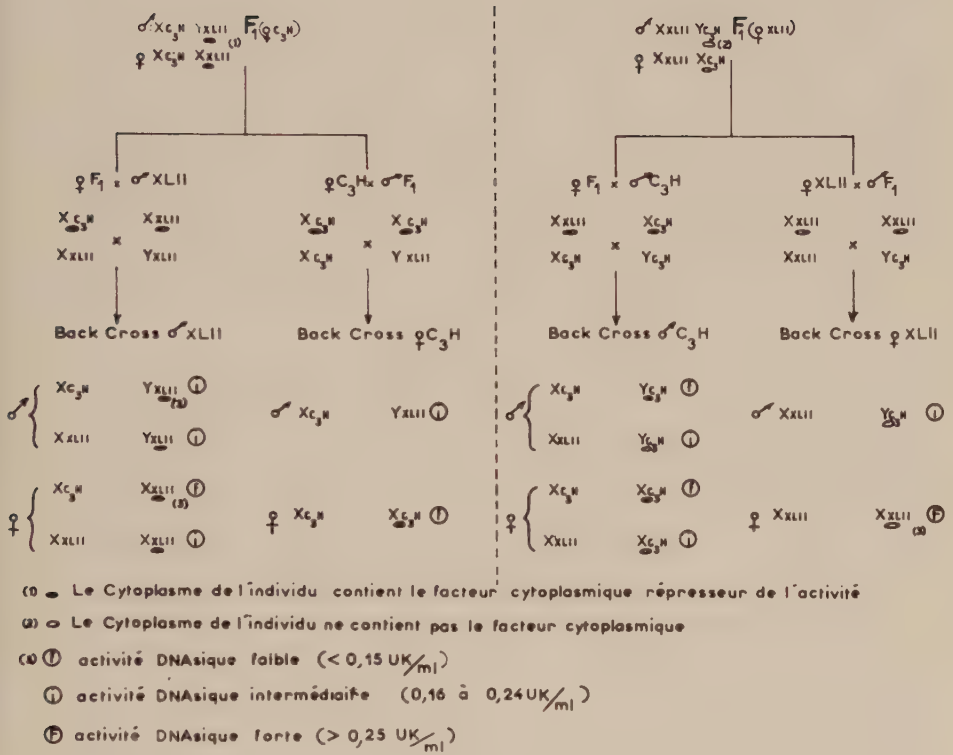
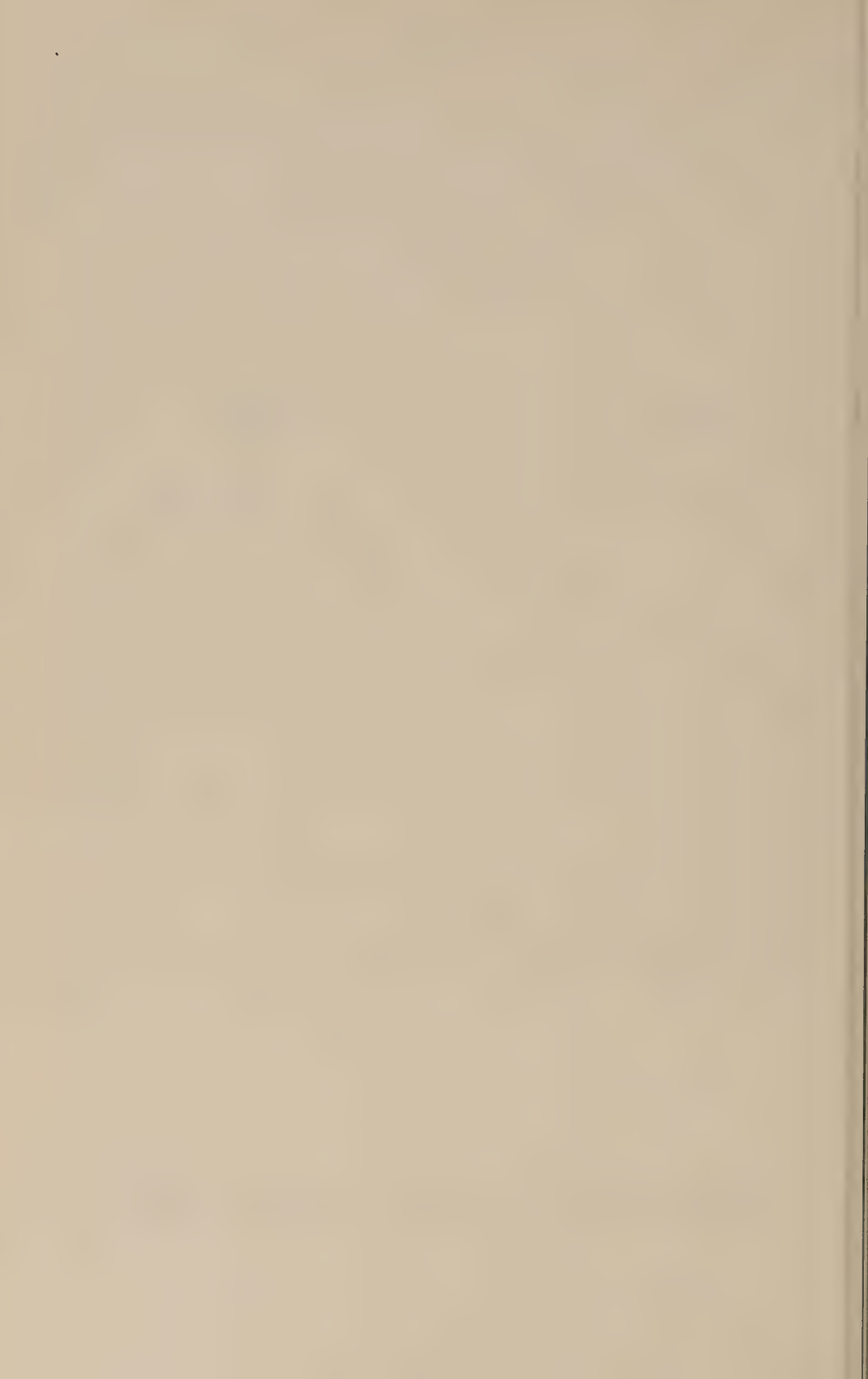


TABLEAU N° 21



REPARTITION DES CHROMOSOMES SEXUELS ET DU FACTEUR CYTOPLASMIQUE POUR LES CROISEMENTS PREVUS.



5° - que chez les back cross XLII retour à la femelle, l'activité est réprimée puisque tous les individus possèdent à la fois le chromosome X^{XLII} et le facteur cytoplasmique.

De fait, les résultats fournis par l'expérimentation, concordent bien avec ceux que l'on pouvait prévoir en suivant notre hypothèse. Toutefois, étant donné sa complexité, il serait intéressant de pouvoir la confirmer par une longue suite d'expérience que nous allons maintenant résumer.

Afin de prouver définitivement la présence de ce facteur cytoplasmique et son interdépendance du chromosome X^{XLII} , on réaliserait une série de six back cross successifs à partir d'un hybride F_1 femelle issue de mère C_3H et d'un mâle XLII, puis en recroisant une femelle back cross 2 ainsi obtenue avec un mâle XLII et ainsi de suite jusqu'au back cross 6. De cette manière on arriverait théoriquement à posséder des individus dont le génotype serait celui de la souche XLII alors que son cytoplasme aurait conservé les caractéristiques de la souche C_3H et donc le facteur cytoplasmique. Dans une telle expérience nous ne sommes pas à l'abri des facteurs de dilution et d'interaction du génome sur le phénotype au cours des différentes générations ; aussi, un résultat négatif ne pourrait entraîner ipso facto l'invraisemblance de notre hypothèse.

Afin de déterminer si l'activité DNasique I du plasma suit bien la répartition génétique du facteur cytoplasmique et du chromosome X^{XLII} , il serait également intéressant de réaliser les quatre croisements back cross qui, pour des raisons déjà exprimées, ne sont pas fournis dans ce travail. Le tableau n° 21 résume ces croisements en tenant compte de la répartition des chromosomes sexuels et du facteur cytoplasmique, et en tentant de prévoir approximativement l'activité DNasique de chaque back cross. Ces prévisions ne peuvent tenir compte de la sensibilité de la méthode et du nombre d'expérimentations dans chaque classe, et en conséquence, une activité que nous avons noté comme intermédiaire - (i) - peut ne pas être statistiquement différente d'une activité faible - (f) - ou forte - (F) - Toutefois, si notre hypothèse se confirme, l'expérimentation devrait au moins nous montrer une différence statistiquement significative entre les deux séries de back cross XLII, le retour au mâle gardant une activité DNasique intermédiaire voisine de celle des hybrides F_1 , l'activité des back cross de retour à la femelle "remontant" vers celle de la XLII.

En conclusion, l'activité DNasique neutre du plasma est génétiquement déterminée chez les souris de souche XLII et C_3H . Ce conditionnement génétique est sous la dépendance d'un système polygénique ; sur ce terrain génotypique, agirait un facteur cytoplasmique héréditaire dont l'action répressive ne serait liée qu'aux déterminants sexuels du génome XLII.

Bien qu'éloignée par certains aspects, nous pouvons rapprocher notre hypothèse de celle soutenue par BITTNER (9) (10), et par d'autres (2) (97) à propos du principal agent responsable de la tumeur mammaire chez la souris : cet agent assimilé par tous les auteurs à un virus cytoplasmique - M. T. V. (*) - se transmet à la descendance par le lait. Les femelles des souches résistantes au cancer mammaire sont infectées par un mâle d'une souche sensible possédant le M. T. V., la sensibilité à l'infection de ces femelles dépendant de facteurs génomiques. Nous sommes donc là aussi en présence d'un agent cytoplasmique héréditaire dont l'activité est, dans une certaine mesure, liée au génôme.

Ce rapprochement pourrait prendre toute sa valeur s'il nous était donné d'établir une relation entre l'activité DNasique I du plasma et la double sensibilité aux agents cancérogènes et au cancer mammaire de certaines souches. A ce propos, il ne semble pas inutile de rapprocher qu'à l'opposé de la souche XLII tout particulièrement résistante, la souche C₃H dont l'activité DNasique I plasmatique est très faible et qui, dans notre hypothèse, possède le facteur cytoplasmique, est très sensible au cancer mammaire et aux agents cancérogènes.

La longue suite des expériences proposées - facteurs lait et back cross 6 - pourrait être conduite en vue de l'étude parallèle de ces deux phénomènes.

oOo

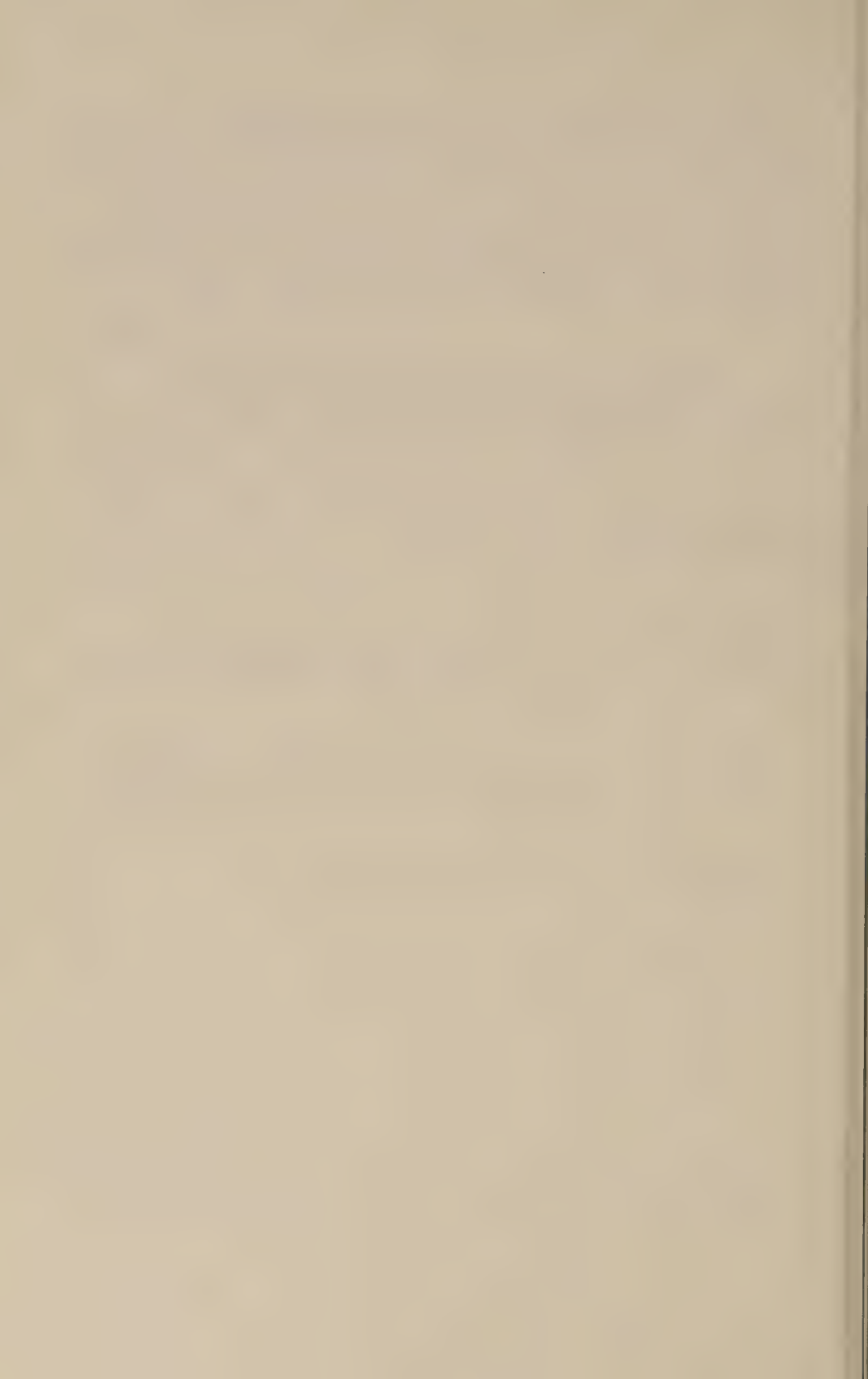
(*) Mammary tumor Virus.

TROISIEME PARTIE

ETUDE BIOCHIMIQUE COMPAREE DES DNases I PLASMATIQUES des SOURIS XLII et C₃H.

INTRODUCTION

- Chapitre I : Influence de l'environnement.
- Chapitre II : Etude électrophorétique et chromatographique comparée des DNases I plasmatiques de souris XLII et C₃H.
- Chapitre III : Etude comparative de certaines constantes de l'activité DNasique I du plasma des souches XLII et C₃H.
- Chapitre IV : Discussion et Conclusion.



INTRODUCTION

"La mesure d'une activité enzymatique d'un tissu, dans des conditions définies, peut être employée pour décrire une expression phénotypique". Nous reposant sur ce principe énoncé par KRETCHMER (70) nous venons de conclure au conditionnement génétique de la DNase I plasmatique chez la souris. Or, il existe trois mécanismes par lesquels une différence génétique peut affecter une activité enzymatique :

- elle peut résulter d'une différence quantitative dans le taux de l'enzyme,
- elle peut être cause d'une différence de structure moléculaire de la protéine-enzyme,
- enfin, l'effet sur l'activité peut être indirect, dépendre de l'environnement et donc n'entraîner aucun changement ni qualitatif ni quantitatif de l'enzyme lui-même.

Dans un premier chapitre, nous étudierons donc l'influence des effets indirects sur l'activité enzymatique, en considérant les différents facteurs pouvant interférer sur son expression : les facteurs extérieurs au milieu enzymatique, ce que nous appellerons l'environnement externe, et le milieu enzymatique lui-même ou environnement interne.

Ces facteurs n'ayant aucune influence dans le cadre de notre expérimentation - chapitre I - nous avons tenté de déterminer dans les deux chapitres suivants une éventuelle différence de structure du ou des enzyme(s) présent(s) dans le plasma des souches XLII et C₃H. Confirmant cette hypothèse, les travaux de RIOU et Coll. montrent, par chromatographie sur DEAE cellulose et sur carboxy-méthyl cellulose, la séparation en deux fractions distinctes de l'activité DNasique neutre du sérum de chat (107), chacune d'entre elles révélant des températures d'inactivation différentes (106).

Le deuxième chapitre est donc consacré à l'étude électrophorétique et chromatographique des sérums des souris XLII et C₃H.

Le troisième chapitre étudie comparativement certaines constantes de l'activité enzymatique : la dénaturation thermique, l'activité en fonction du pH, l'activité en fonction de la concentration du milieu en ions Mg⁺⁺ et Mn⁺⁺.

oOo

CHAPITRE I.

INFLUENCE ET L'ENVIRONNEMENT

I. - DEFINITION DE L'ENVIRONNEMENT

=====

Si nous résumons par un schéma les différents facteurs participant à l'expression phénotypique du génôme, nous pouvons écrire :



Nous appelons donc "environnement" tout ce qui n'étant pas de l'enzyme lui-même, peut influencer l'expression de son activité.

A partir de cette définition, nous distinguerons deux sortes d'environnement : l'environnement externe qui réunit tous les facteurs extérieurs au milieu enzymatique ; l'environnement interne, qui rassemble tous les éléments plasmatiques susceptibles d'agir directement sur l'activité enzymatique apparente.

II. - L'ENVIRONNEMENT EXTERNE

=====

Les différences d'activité DNasique du plasma observées sur les souches XLII et C H peuvent provenir soit de l'âge des animaux soit des variations dans leurs conditions d'élevage.

A - Influence de l'âge :

Si nous nous reportons au tableau n° 22, nous ne constatons aucune différence statistiquement significative de l'activité DNasique I du plasma de deux à six mois, tant sur la souche XLII que sur la souche C₃H. Or, les animaux utilisés ont été sacrifiés entre le deuxième

TABLEAU N° 22

ACTIVITE DNastique I PLASMATIQUE DES SOURIS XLII ET C₃H

EN FONCTION DE L'AGE

Age	C ₃ H		XLII	
	Nombre d'animaux	$\bar{x} \pm 2 \sigma_m (1)$	Nombre d'animaux	$\bar{x} \pm 2 \sigma_m (1)$
60 à 75 jours	17	0,13 $\pm$ 0,014	-	-
76 à 90 jours	13	0,12 $\pm$ 0,074	12	0,29 $\pm$ 0,012
91 à 120 jours	15	0,13 $\pm$ 0,047	15	0,33 $\pm$ 0,044
121 à 150 jours	17	0,11 $\pm$ 0,019	18	0,24 $\pm$ 0,026
151 à 190 jours	10	0,13 $\pm$ 0,032	20	0,29 $\pm$ 0,019

(1) - $\bar{x} \pm 2 \sigma_m$ = moyenne et valeur double de l'écart standard de l'activité DNastique neutre du Plasma évaluées en Unités Kurnick par millilitre.

et le sixième mois suivant leur naissance ; l'influence éventuelle de l'âge est donc à exclure dans le cadre de notre expérimentation.

B - Variations dans les conditions d'environnement :

KRETCHMER et SEIFTER ont décrit l'influence des conditions d'environnement sur l'expression phénotypique du génôme (70). Or, tous les animaux sacrifiés, ainsi que ceux des générations précédentes sont, comme nous l'avons déjà vu, soumis aux mêmes régimes, aux mêmes conditions climatiques et aux mêmes soins.

Les conditions dans lesquelles nous opérons semblent donc exclure toute influence possible de l'environnement externe sur les différences de l'activité DNasique du plasma observées entre les souches XLII et C₃H.

III. - L'ENVIRONNEMENT INTERNE

=====

L'activité enzymatique mesurée dépend dans chaque cas, non seulement de la concentration réelle en enzyme, mais aussi des conditions d'environnement de cet enzyme : environnement ionique et protéinique, présence ou absence d'effecteurs de la réaction enzymatique.

A - Environnement ionique et protéinique :

Dans le cadre de notre expérimentation, son influence sur l'activité DNasique mesurée semble nulle, car la dilution des plasmas dans la méthode de dosage utilisée est telle que toutes les différences initiales dans les concentrations ioniques et protéiniques sont annulées. Notons de plus, que le taux en protéines du plasma est le même chez les deux souches : 76 mg/ml par la technique de LOWRY (88).

B - Présence ou absence d'effecteurs :

Les différences d'activité relevées chez les souches parentales peuvent être dues à la présence d'effecteurs protéiniques génétiquement conditionnés : inhibiteur dans le plasma de la souche C₃H, activateur dans celui de la souche XLII.

Ainsi, dans un premier temps, nous avons étudié l'activité DNasique du plasma de chaque souche en fonction de la quantité de plasma utilisée pour la réaction. Pour la souche XLII, l'activité mesurée est proportionnelle à la quantité de plasma ; pour la souche C₃H, nous n'avons pu conclure étant donné d'une part la faible activité de cette souche, et d'autre part la sensibilité de la méthode.

TABLEAU N° 23
 ACTIVITE DNAsique NEUTRE DU MELANGE A PARTIES EGALES DES PLASMAS DE SOURIS XLII ET C₃H

N°	Lots de Plasmas		Mélange à parties égales des plasmas C ₃ H et XLII correspondant	
	Souris XLII UK/ml	Souris C ₃ H UK/ml	Valeur expérimentale UK/ml	Valeur théorique (*) UK/ml
1	0,26	0,11	0,18	0,165
2	0,40	0,16	0,27	0,26
3	0,22	0,10	0,13	0,16
4	0,18	0,06	0,10	0,12
5	0,18	0,05	0,12	0,15
6	0,24	0,06	0,14	0,15
7	0,20	0,05	0,14	0,125
8	0,22	0,08	0,17	0,15
9	0,24	0,09	0,18	0,16
10	0,26	0,10	0,18	0,16
11	0,23	0,06	0,16	0,155
12	0,32	0,16	0,22	0,24
13	0,31	0,23	0,25	0,27
14	0,31	0,16	0,26	0,235
15	0,31	0,14	0,27	0,225
16	0,28	0,14	0,24	0,21
17	0,39	0,11	0,18	0,25
18	0,24	0,14	0,11	0,19
19	0,31	0,05	0,12	0,16
20	0,25	0,14	0,16	0,195
21	0,23	0,11	0,20	0,17
22	0,26	0,13	0,18	0,195
23	0,22	0,10	0,19	0,16
24	0,22	0,10	0,19	0,16
25	0,18	0,06	0,11	0,12
26	0,26	0,07	0,12	0,16
27	0,18	0,06	0,15	0,12
28	0,24	0,06	0,18	0,15
29	0,18	0,06	0,11	0,12
30	0,22	0,10	0,16	0,16
		Moyenne	0,177	0,177
		σ	0,0408	0,0306
		σ_m	0,00745	0,00556

(*) - Les valeurs théoriques représentent les moyennes arithmétiques des valeurs de chaque souche.

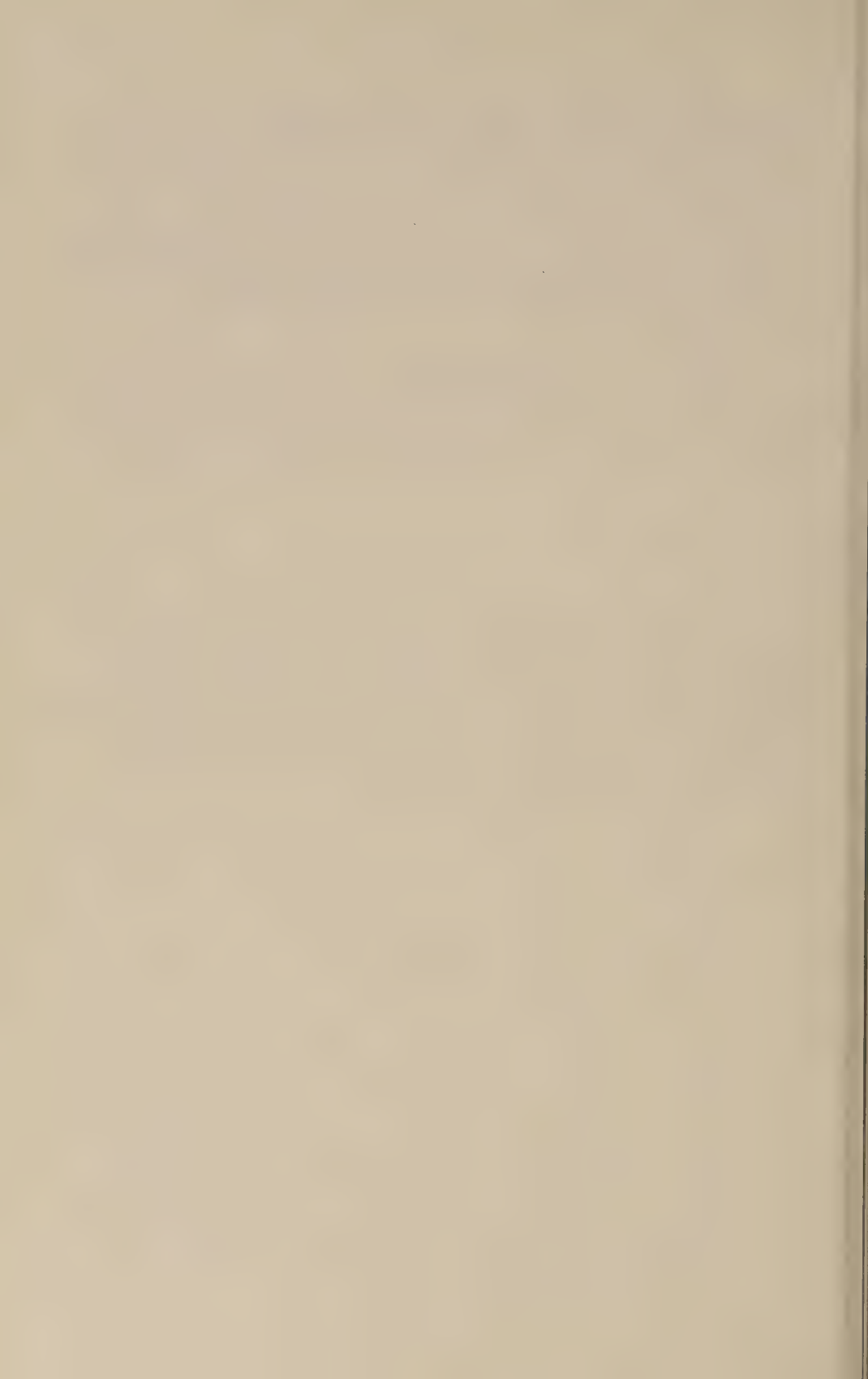
Dans un deuxième temps, nous avons déterminé l'activité DNasique I sur différents plasmas de chaque souche et sur leur mélange à parties égales. En effet, s'il existe un effecteur dans le plasma de l'une des souches, son activité serait mise en évidence aussi bien dans le seul plasma de la souche considérée que sur le mélange des plasmas et il y aurait, de ce fait, dissociation entre la moyenne arithmétique calculée à partir des activités de chaque plasma et celle mesurée sur leur mélange. Or, le tableau n° 23 montre que les moyennes des activités théoriques et mesurées sont les mêmes et que, si leur écart type diffère, cette différence n'est statistiquement pas significative.

Nous n'en concluons pas pour autant à l'absence d'effecteurs dans ces plasmas, le rôle de la dilution ci-dessus mentionnée intervenant aussi dans ce cas. Nous pouvons seulement dire que leur présence éventuelle n'interfère pas dans les conditions où nous travaillons.

IV. - CONCLUSION

=====

Nous venons donc de voir que ni l'âge ni les conditions d'élevage des animaux utilisés d'une part, ni les différences éventuelles d'environnement plasmatique d'autre part, ne pouvaient expliquer, dans nos conditions opératoires, les différences d'activité DNasique observées dans les plasmas de souris de souche XLII et C₃H. Aussi, par l'étude de certaines de leurs constantes d'activité, nous allons maintenant tenter de déterminer si ces enzymes ne possèdent pas des structures moléculaires différentes.



CHAPITRE II.

ETUDE ELECTROPHORETIQUE ET CHROMATOGRAPHIQUE COMPAREE DES DNases I PLASMATIQUES DES SOURIS XLII et C₃H.

I. - ELECTROPHORESE

=====

A - Fractionnement sur gel d'amidon :

Le fractionnement électrophorétique uni et bi dimensionnel des plasmas des souches XLII et C₃H étant sensiblement semblables, nous ne reproduirons ici qu'un seul schéma - fig. n° 9 -.

L'électrophorèse s'effectue en gel d'amidon à pH 8,0. Les différentes bandes obtenues dans l'ordre de mobilité croissante nous donne le fractionnement suivant :

- 1 - une mince trainée γ -globulinique imigrant vers la cathode.
- 2 - une bande d'alpha-2-globulines comparable à la Slow alpha 2 globuline de l'homme.
- 3 et 4. - deux bandes de bêta-globulines correspondant aux transferrines.
- 5 - cette fraction correspond aux alpha-2-globulines. C'est à ce niveau que se fixe l'hémoglobine et que se manifeste l'activité oxydasique de la céruloplasmine. Elle peut se dédoubler en deux fractions d'importance inégale (5 et 5') comme le montre la migration bi-dimensionnelle.
- 6 - cette bande révèle, en migration bi-dimensionnelle, deux fractions : l'une au niveau des albumines, l'autre au niveau des alpha-1-globulines.
- 7 - une bande d'alpha-globulines post albuminiques.
- 8 - une bande d'albumines.
- 9 - une fraction d'alpha-1-globulines pré-albuminiques qui, en migration bi-dimensionnelle, se révèle toujours bien séparée des albumines.

Les seules variations possibles dans le présent fractionnement se situent au niveau des bandes pré et post-albuminiques. Elles se retrouvent tant chez la souche XLII que chez la souche C_3H et sont uniquement dues à des variations inhérentes à la technique sur gel d'amidon.

Localisation de la DNase I.

Les fractions DNasiques I de la souris C_3H et de la souris XLII sont douées de propriétés électrophorétiques identiques sur gel d'amidon (figure n° 9). En migration unidimensionnelle l'activité DNasique se révèle au niveau de la fraction n° 3' (transferrine). Cette fraction est en réalité impure et se scinde par migration bidimensionnelle en 2 fractions (3 et 3'). C'est sur la fraction 3' correspondant à une α -globuline que l'on retrouve l'activité enzymatique.

B - Fractionnement sur gélose.

La technique de fractionnement sur gélose nous a permis de situer la DNase I plasmatique dans la répartition de l'ensemble des protéines plasmatiques.

Grâce à l'obligeante collaboration de RIOU nous reproduisons sur la figure n° 10 nos résultats obtenus chez les souris XLII et C_3H parallèlement à ceux qu'il a obtenus dans les mêmes conditions opératoires sur le plasma de rat Wistar. Les plaques n° 1 montrent la répartition de l'ensemble des protéines ; de gauche à droite nous distinguons les pré-albumines et les albumines, les α -1 puis les α -2-globulines, les β et enfin les γ -globulines.

En utilisant, sur les plaques n° 2, de la gélose DNA, et en révélant l'éventuelle activité de la DNase I par le vert de méthyle nous mettons en évidence le lieu de migration de l'enzyme. Il est à remarquer que, spécialement pour la souche C_3H , la mise en évidence de l'activité DNasique nous a créé quelques difficultés d'ordre technique étant donné la très faible activité de leur plasma.

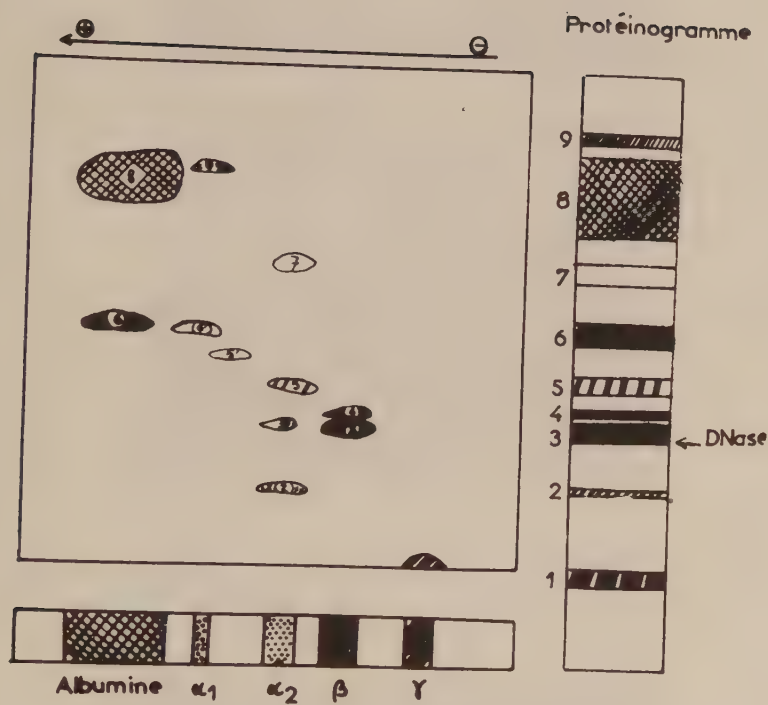
Qu'il s'agisse de souris XLII ou C_3H , l'activité DNasique neutre plasmatique, comme dans le cas de l'électrophorèse sur gel d'amidon, se retrouve avec les α -2-globulines post albuminiques. Nous pouvons de plus constater qu'une différence éventuelle serait décelable par cette technique puisque chez le rat Wistar, l'activité enzymatique semble moins mobile ; on la retrouve au niveau de la limite de départ du plasma.

II. - CHROMATOGRAPHIE

=====

La figure n° 11 représente les diagrammes protéiniques et les répartitions de l'activité DNasique obtenues par chromatographie sur DEAE cellulose des plasmas de souris C_3H et XLII.

FIGURE N° 9



FRACTIONNEMENT UNI ET BI DIMENSIONNEL PAR ELECTROPHORESE SUR GEL D'AMIDON
DES PLASMAS DE SOUCHE XLII ET C₃H.

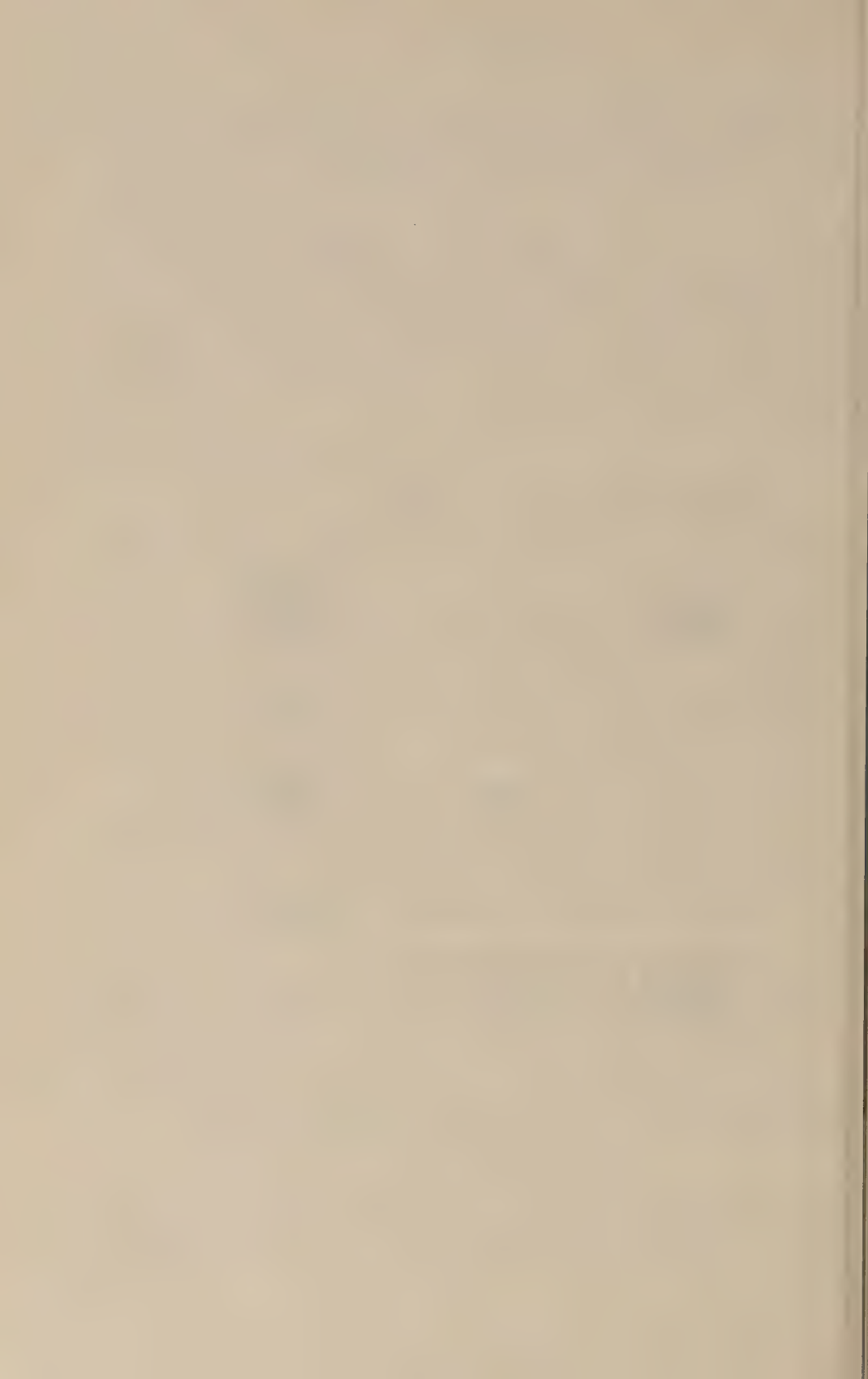
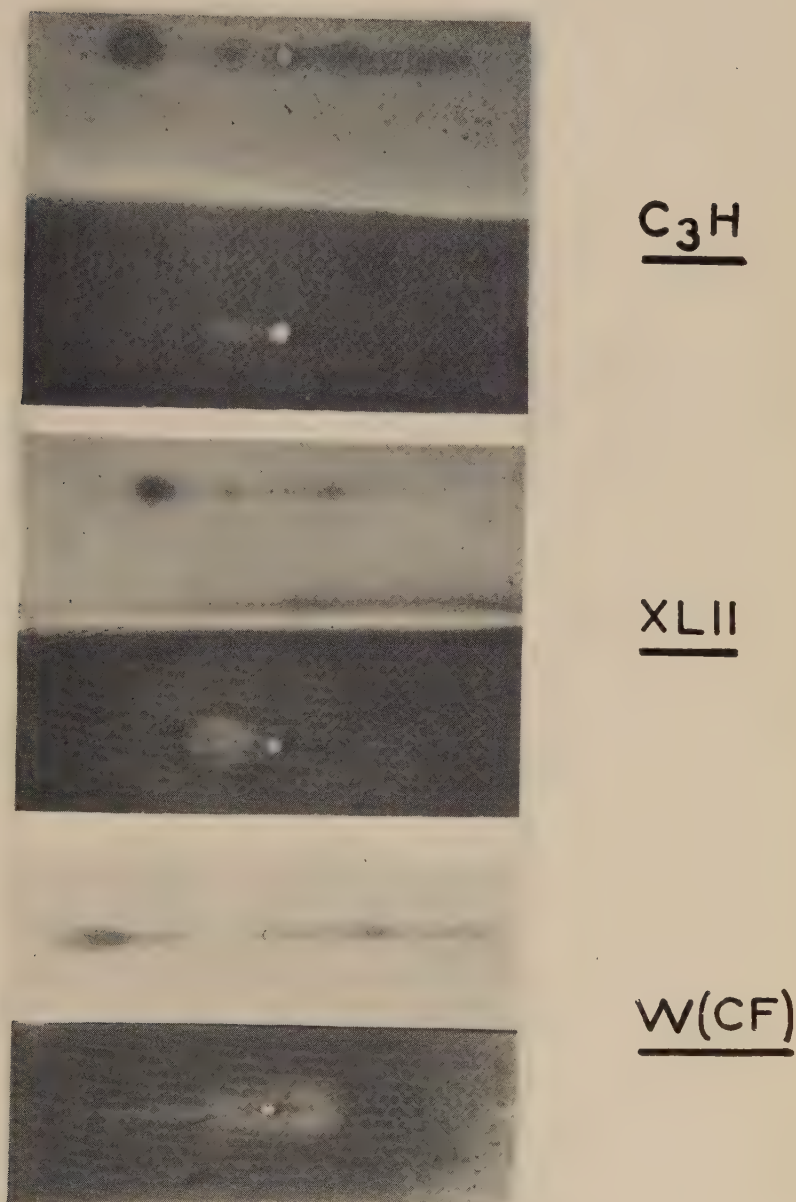


FIGURE N° 10



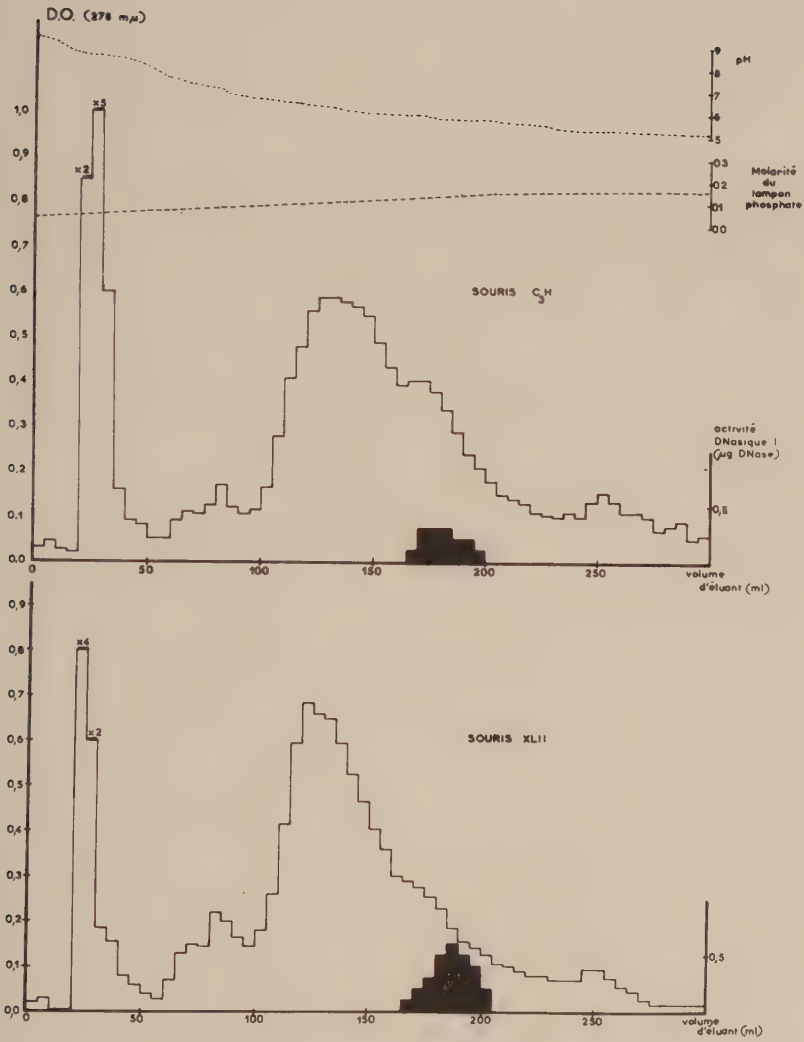
FRACTIONNEMENT SUR GELOSE ET SUR GELOSE DNA DES PLASMAS DE SOURIS C₃H et XLII ET DE RAT WISTAR.

Plaques 1 - Protéinogramme

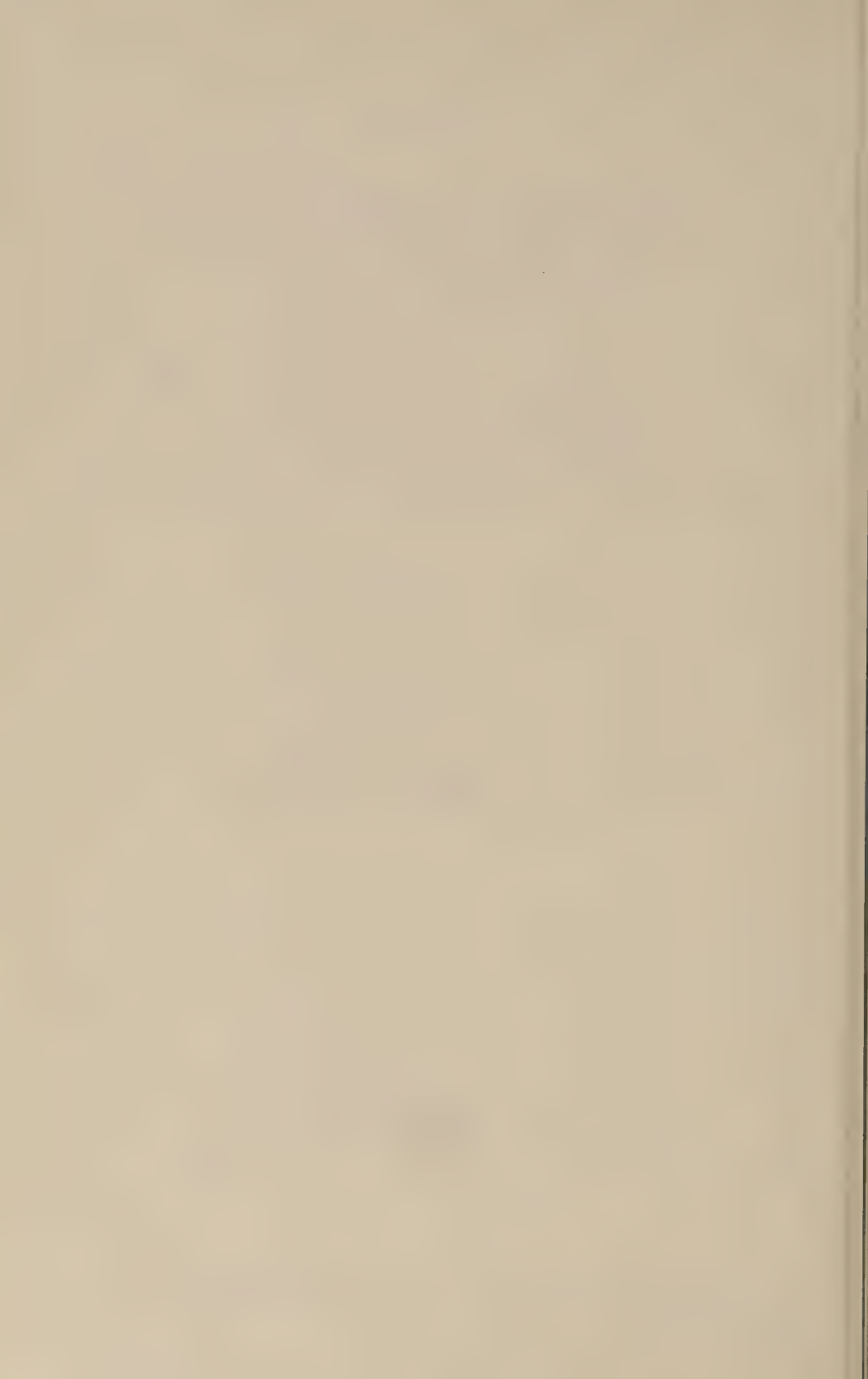
2 - Localisation de la DNase I sur gélose DNA par le vert de méthyle.



FIGURE N° 11



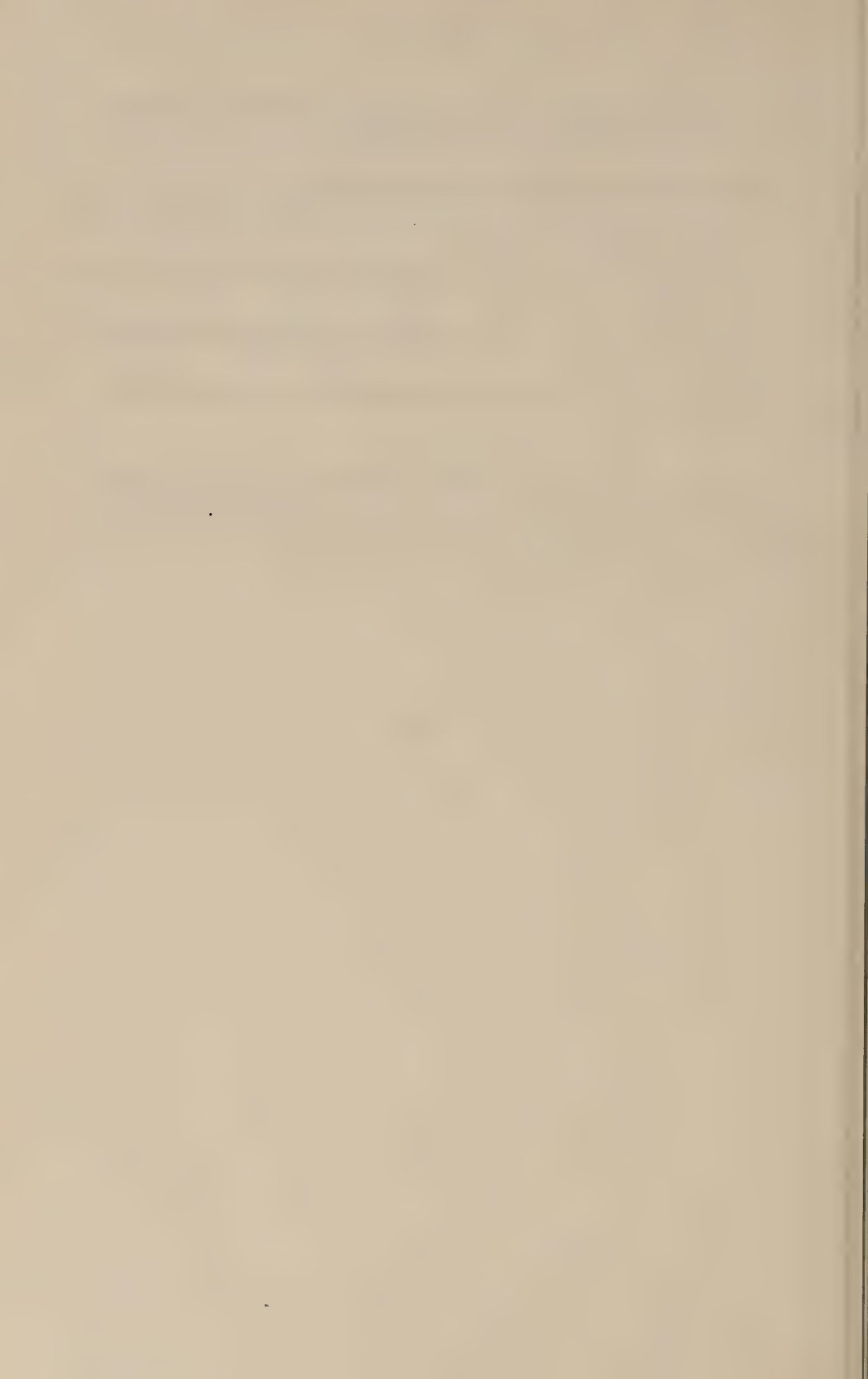
CHROMATOGRAMME ET REPARTITION DE L'ACTIVITE DNASIQUE NEUTRE DU PLASMA DE
SOURIS XLII ET C₃H.



Ces diagrammes sont sensiblement semblables et nous pouvons y distinguer cinq fractions protéiniques :

- . la première est 0,05 M en tampon phosphate à pH = 8,5
- . la seconde est 0,06 à 0,09 M tampon phosphate à des pH compris entre 6,5 et 7,5.
- . la troisième 0,10 à 0,12 M tampon phosphate à des pH compris entre 6,0 et 6,5.
- . la quatrième 0,13 à 0,15 M tampon phosphate à des pH compris entre 5,8 et 6,0.
- . la dernière 0,16 M tampon phosphate à des pH compris entre 5,2 et 5,6.

Dans les deux cas, l'activité DNasique se retrouve groupée au niveau du quatrième pic, elle passe donc avec la fraction 0,13 à 0,15 M du tampon phosphate à des pH compris entre 5,8 et 6,0. Le taux de recouvrement est de 75 % pour l'ensemble des protéines et de 70 % pour l'activité DNasique.



CHAPITRE III.

ETUDE COMPARATIVE DE CERTAINES CONSTANTES DE L'ACTIVITE DNasique I DU PLASMA DES SOUCHES XLII ET C₃H.

I. - DENATURATION THERMIQUE

=====

Dans un premier temps nous avons établi la courbe d'activité DNasique neutre après préchauffage au B. M. des plasmas à des températures de 37°C à 60°C tous les deux degrés, et pendant 30 minutes. Nous observons - fig. n° 12 - :

1° - que l'activité du témoin non chauffé et celle du plasma chauffé 30 min. à 37°C sont identiques.

2° - qu'il se produit une augmentation progressive de l'activité de 37°C à 50°C, cette dernière température étant la température optimale d'activité dans les conditions décrites pour les deux souches.

3° - que l'activité décroît ensuite très rapidement pour devenir nulle à 60°C.

4° - que le profil des deux courbes est sensiblement le même.

Dans un deuxième temps, les plasmas sont chauffés dans un B. M. à 52°C pendant des temps variables s'étalant de 30 mn. à 8 heures, toutes les 30 minutes. Nous observons - fig. n° 13 - :

1° - qu'il existe un temps de latence d'environ 3 heures pour les deux souches.

2° - que la courbe de dénaturation est ensuite linéaire, sa pente étant sensiblement semblable pour les deux souches.

3° - que la dénaturation totale correspond à un chauffage de 8 h à la température de 52°C.

II. - ACTIVITÉ EN FONCTION DU pH

=====

Dans une première série d'expérimentations, nous avons étudié cette activité dans une gamme de pH s'étendant de 5,9 à 7,5, toutes les 0,2 unités pH, en milieu tampon phosphate - fig. n° 14. - La figure n° 15, représente cette même activité en milieu tampon véronal et dans une gamme de pH allant de pH 7 à pH 9.

Le pH optimum d'activité DNasique du plasma tant pour la souche XLII que pour la C_3H , se situe entre pH 6,6 et pH 6,9. Le profil de la courbe est sensiblement le même dans les deux cas et diffère de celui obtenu pour la DNase cristallisée de KUNITZ dont la zone de pH optimum est nettement plus étalée - de pH 6,3 à pH 7,1. -.

III. - ACTIVITE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN

=====

IONS Mg^{++} et Mn^{++} .

=====

Rappelons, que pour cette expérimentation, l'activité DNasique I est évaluée par la méthode des acido-solubles, à pH constant, et à force ionique variable puisque nous rajoutons dans le milieu des quantités croissantes d'ions Mn^{2+} ou Mg^{2+} . De plus, le plasma de la souche XLII a été préalablement dilué de manière à obtenir une activité très voisine de celle de la souche C_3H .

Les résultats fournis par cette expérimentation - fig. n° 16 - montrent :

1° - qu'en l'absence d'ions activateurs, l'activité est pratiquement nulle et qu'il suffit d'ajouter une quantité relativement très petite pour que l'activité soit maximale.

2° - pour l'ion Mg^{++} :

- que les courbes d'activité en fonction de la concentration sont semblables pour les deux souches.

- que les conditions optimales sont réunies lorsque la concentration est de 15 micromoles par millilitre. - $15 \mu M/ml$ - dans le mélange réactionnel. Il n'existe qu'une seule concentration optimale alors que la DNase I cristallisée de KUNITZ en montre deux (34).

3° - pour l'ion Mn^{2+} :

- que les courbes d'activité sont semblables pour les deux souches jusqu'à la concentration de $20 \mu M/ml$.

FIGURE N° 12



ACTIVITE DNASIQUE L PLASMATIQUE DES SOURIS XLII ET C₃H :

- en fonction d'un préchauffage de 30 minutes à des températures variables.

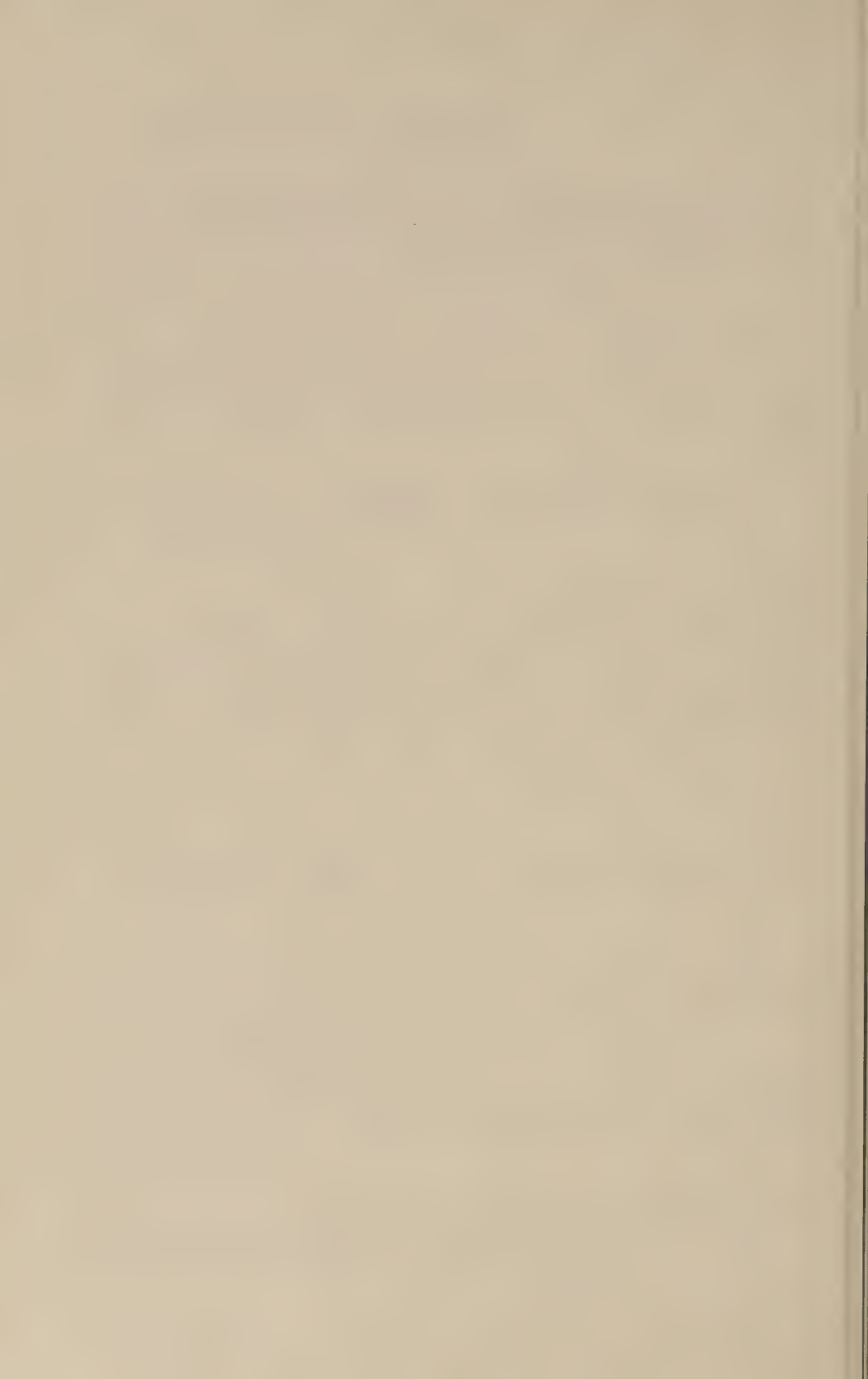
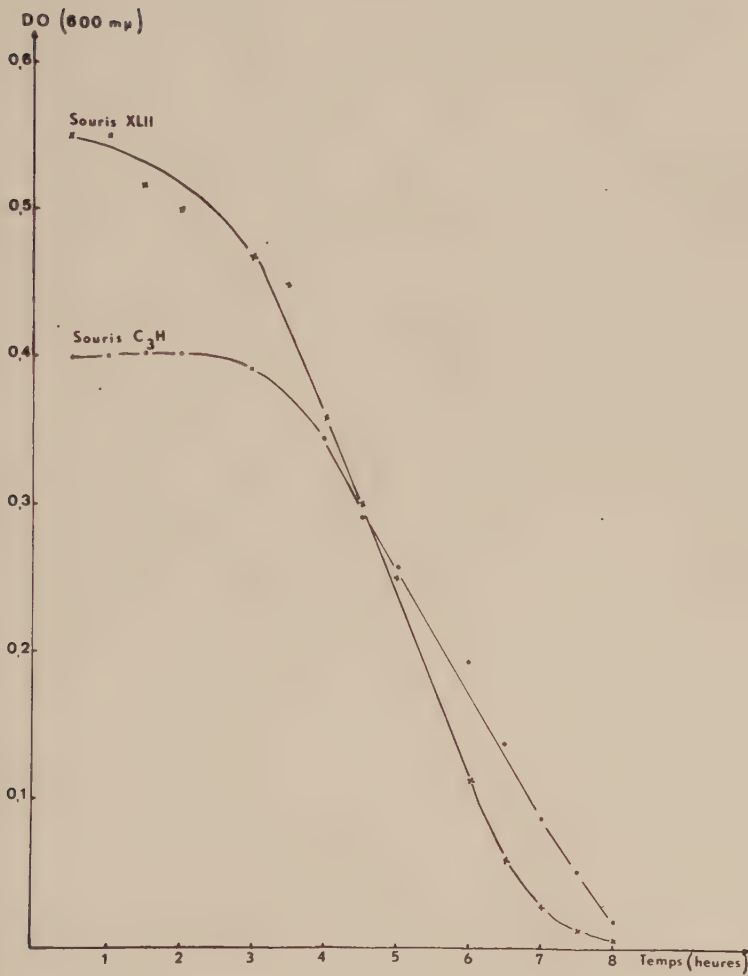


FIGURE N° 13



ACTIVITE DNASIQUE / PLASMATIQUE DES SOURIS XLII ET C₃H :

- en fonction d'un préchauffage à 52°C pendant des temps variables.



FIGURE N° 14

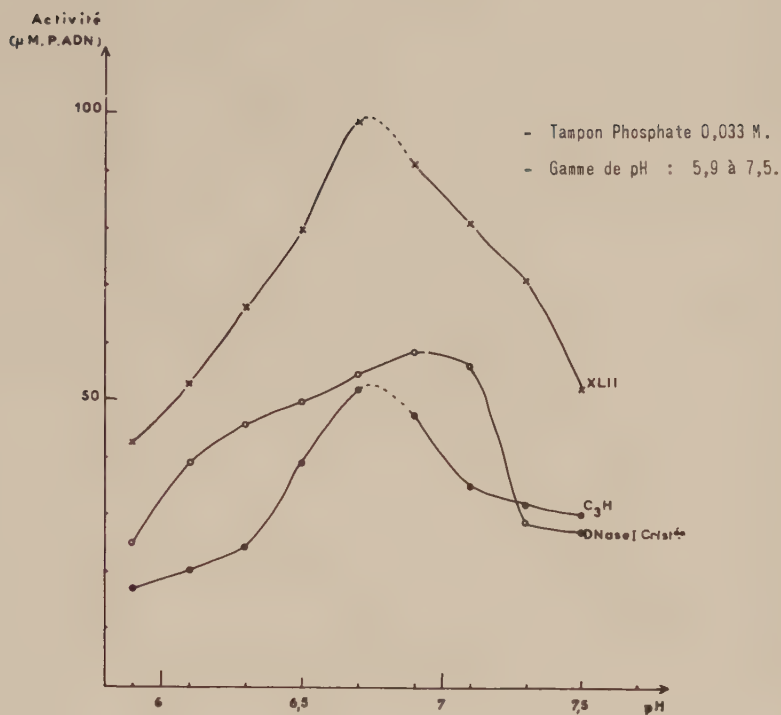
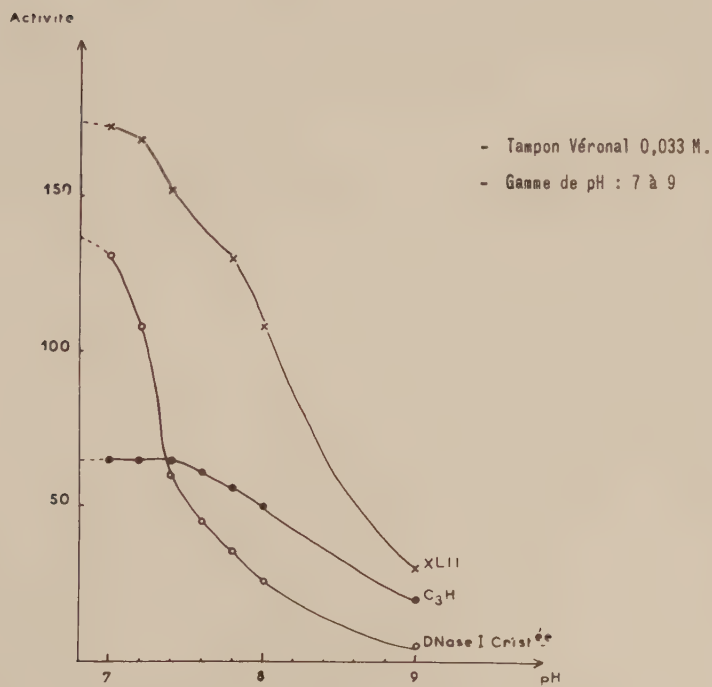


FIGURE N° 15



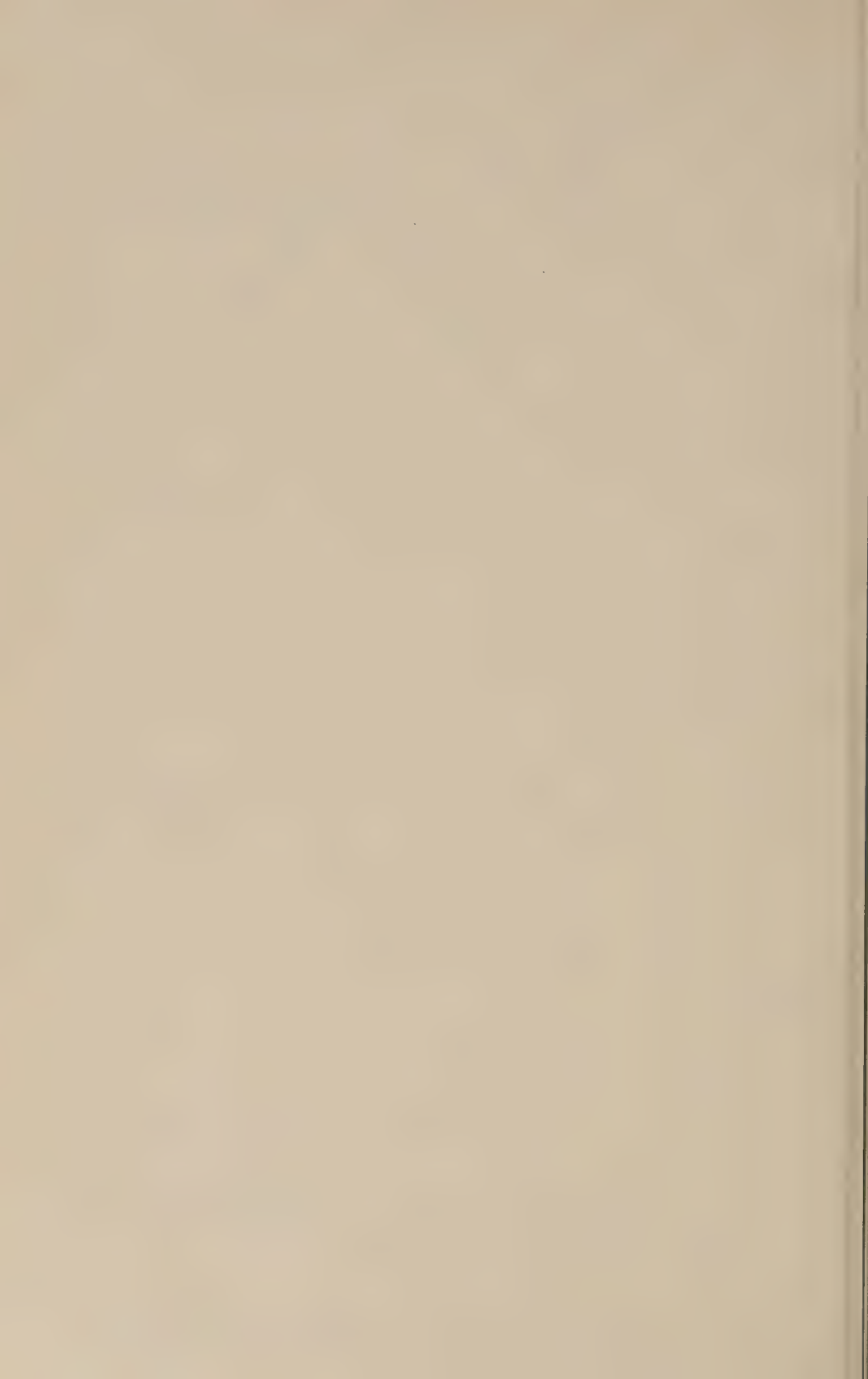
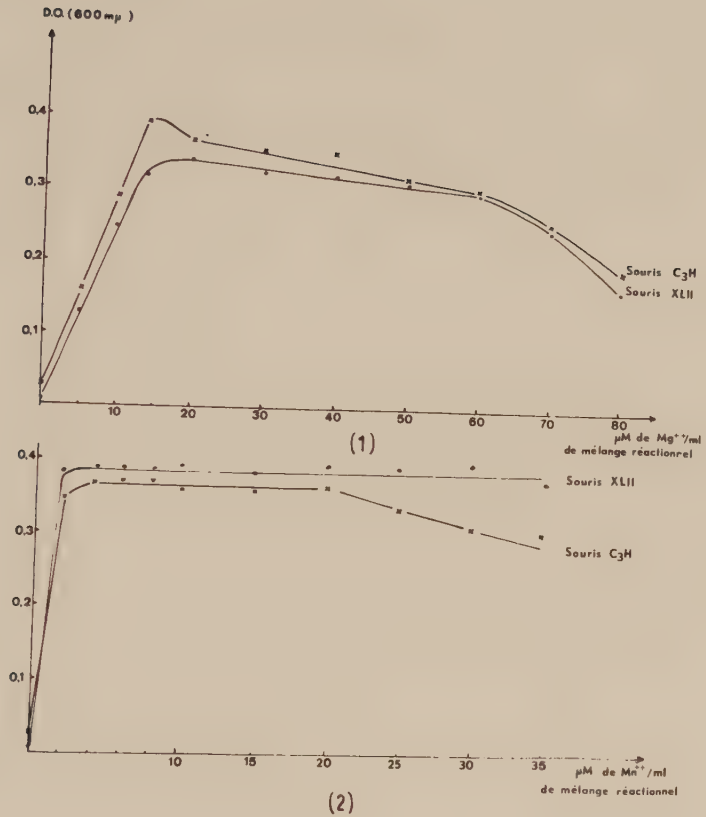


FIGURE N° 16

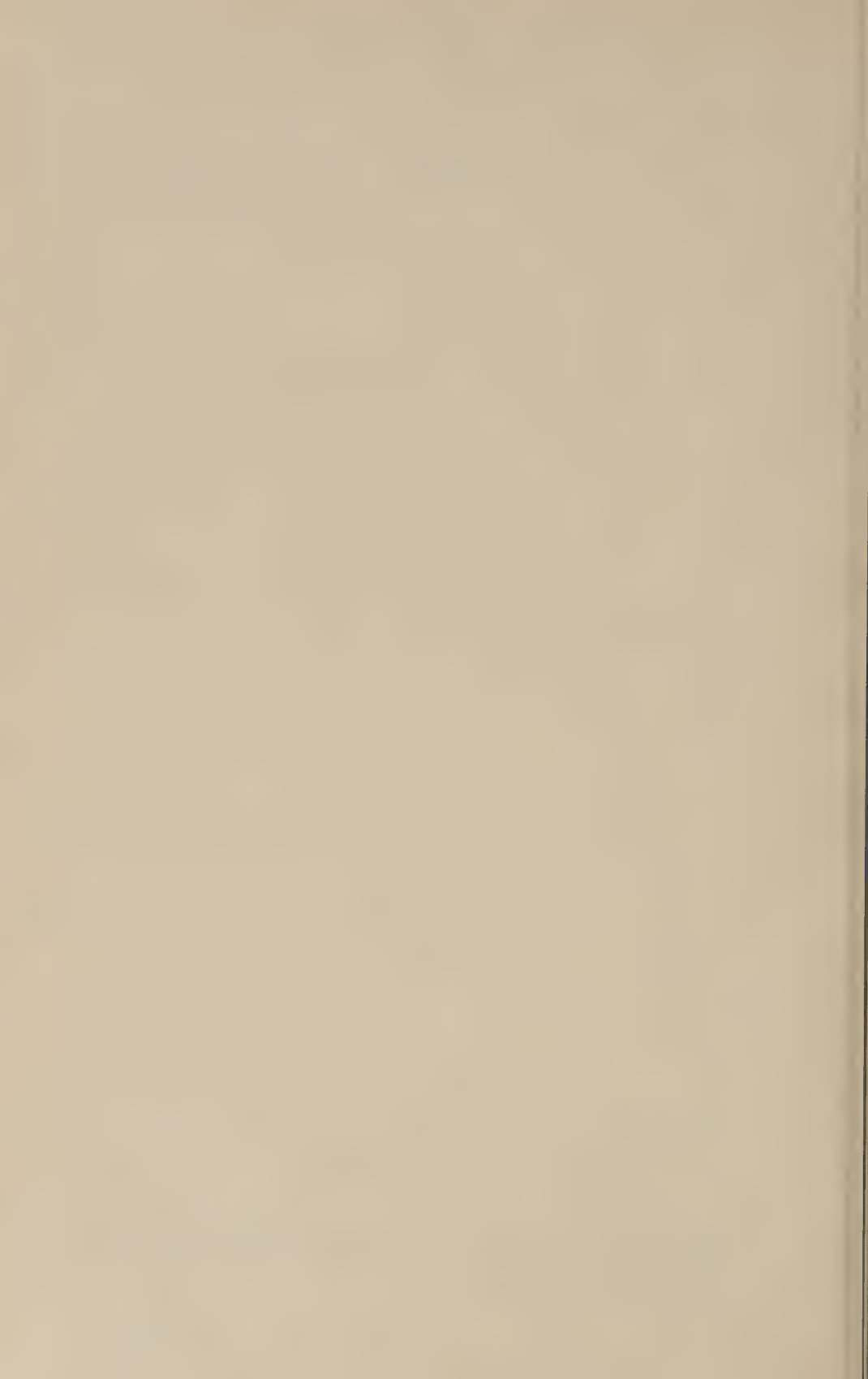


ACTIVITE DNASIQUE L PLASMATIQUE DES SOURIS XLII ET C₃H :

1 - en fonction de la concentration en ions Mg⁺⁺

2 - en fonction de la concentration en ions Mn⁺⁺

L'activité DNasique I est évaluée par la méthode des acido-solubles. Les plasmas de la souche XLII sont préalablement dilués dans du NaCl 0,14 M de manière à obtenir une activité voisine de la souche C₃H.



- qu'à partir de cette concentration l'apport supplémentaire d'ions Mn^{++} inactive lentement l'activité de la DNase I plasmatique de la souche C_3H .

- que les conditions optimales pour les deux souches sont réunies lorsque la concentration en ions Mn^{++} est de $2 \mu M/ml$.

Rappelons que pour la DNase cristallisée de KUNITZ, les travaux de FESTY montrent trois concentrations successives - $6 \mu M/ml$, $15 \mu M/ml$ et $22 \mu M/ml$ - pour lesquelles l'activité est maximale (34).

oOo



CHAPITRE IV.

DISCUSSION ET CONCLUSION

En reprenant l'ensemble de ces résultats, nous constatons une constante similitude du comportement des DNases I plasmatiques des deux souches de souris XLII et C_3H .

1° - La composition des protéines plasmatiques révélée par électrophorèse sur gélose ou sur gel d'amidon, est la même dans les deux souches et les vitesses de migration de la DNase I, caractérisée comme une alpha-2-globuline, sont semblables. Or, les mêmes techniques mettent en relief une composition en protéines plasmatiques différente chez le rat Wistar (108), et bien que la DNase I de son plasma soit aussi caractérisée parmi les alpha-2-globulines, sa vitesse de migration comparée à celle présente dans le plasma des souris semble moins importante. Ces résultats sont de plus, différents de ceux observés par RIOU chez le chat (107). Il ne semble donc pas que l'absence de différence entre les souches XLII et C_3H proviennent d'un manque de finesse des techniques utilisées, d'autant qu'elles permettent de mettre en évidence, grossièrement, les différences quantitatives de cette activité.

2° - La chromatographie sur DEAE cellulose ne révèle pas de différences dans l'absorption de l'ensemble des protéines plasmatiques chez les souris XLII et C_3H . Dans les deux cas, l'activité DNasique neutre se retrouve en un seul bloc dans le pic n° 4 qui correspond à une élution par le tampon phosphate à une molarité de 0,13 à 0,15 M à pH 5,8 à 6,0. Là encore nous retrouvons les différences quantitatives d'activité déjà signalées pour les électrophorèses avec un taux de recouvrement très satisfaisant tant pour les protéines - 75 % - que pour l'activité DNasique I - 70 % -. Par ailleurs, les travaux de RIOU ont montré, dans les mêmes conditions opératoires, que l'activité DNasique I du sérum de rat Wistar (106) et plus encore de chat (107) se scindait en deux parties bien distinctes, là non plus il ne semble donc pas que les techniques ne soient pas assez fines pour mettre en évidence ces différences.

3° - L'étude de la dénaturation de l'enzyme par préchauffage des plasmas à des températures variables et à des temps variables fournissent les mêmes données pour les deux souches : l'activité maximale après préchauffage de 30 minutes à 50°C, devient nulle à la température de 60°C ; elle est complètement inhibée par un préchauffage de huit heures à 52°C.

4° - L'activité est optimale entre pH = 6,6 et 6,9 pour les deux souches.

5° - Une concentration du milieu réactionnel de 15 μM /ml en Mg^{++} ou de 2 μM /ml en Mn^{++} révèle une activité maximale dans les deux cas. Des concentrations supérieures de ces ions activateurs ne produisent pas, ou très peu, d'inhibition de l'activité DNasique contrairement aux résultats obtenus pour la DNase I cristallisée de KUNITZ (34) ou pour les DNases I des sérums de rat ou de chat (106).

6° - Enfin, dans le cadre de notre expérimentation, les milieux extérieurs et environnants ne peuvent être tenus comme responsables des différences d'activité DNasique neutre observées sur les plasmas des souris XLII et C₃H.

En définitive, les techniques utilisées ne nous ont pas permis de mettre en évidence une différence qualitative des DNases neutres plasmatiques de ces souris. On peut donc considérer que nous sommes en présence d'enzymes dont la structure moléculaire est semblable.

CONCLUSION

Présentes dans le règne animal, végétal, et chez les micro-organismes (84), les désoxyribonucléases tiennent une place de choix au sein de la classification des enzymes, ne serait-ce que pour la nature de leur substrat, le DNA, et aussi pour l'importance de leur rôle physiologique (34) notamment dans les mécanismes de défense contre les infections virales (48).

Par ailleurs, le développement récent de l'étude des phénomènes héréditaires a permis de démontrer le conditionnement génétique de nombreux enzymes chez l'homme et chez d'autres mammifères supérieurs ; cependant, chez ces derniers, peu de résultats, sont actuellement acquis en dépit de l'existence de souches pratiquement homozygotes, notamment chez la souris.

C'est pourquoi, disposant de souris élevées en pure "inbreeding" et nous référant aux résultats déjà acquis sur l'étude des désoxyribonucléases, il nous a semblé intéressant de rapporter, dans la deuxième partie de ce travail (*), les résultats qui établissent que, chez la souris, l'activité désoxyribonucléasique neutre du plasma, est sous le contrôle et d'un système polygénique et de déterminants cytoplasmiques.

Parmi les sept souches isogéniques de souris dont nous disposons, nous avons choisi celles qui montraient la plus grande différence dans l'activité DNasique I de leur plasma : la $C_3H/He/Gif$ et la XLII. En croisant ces deux souches entre elles nous avons obtenu des hybrides F1 en distinguant d'emblée deux séries différentes - la série C_3H et la série XLII - suivant que les descendants proviennent d'une mère $C_3H - F1$ (C_3H) - ou d'une mère XLII - F1 (XLII). Les

croisements frère-soeur, dans chaque série, ont fourni les hybrides F2.

(*) - La première partie est consacrée aux techniques génétiques et biochimiques utilisées dans ce travail.

Nous avons aussi réalisé les croisements back cross suivants :

$F1_{(C_3H)}$ femelle	x	C_3H Mâle	} back cross C_3H
C_3H femelle	x	$F1_{(XLII)}$ Mâle	

$F1_{(XLII)}$ femelle	x	$XLII$ Mâle	} back cross $XLII$
$XLII$ femelle	x	$F1_{(C_3H)}$ Mâle	

L'activité désoxyribonucléasique neutre a été déterminée individuellement sur le plasma de chaque souris en adaptant, en micro-méthode, la technique au vert de méthyle proposée par N. B. KURNICK (14) (74). Les résultats obtenus montrent :

1°) - Une différence hautement significative entre les activités DNa-siques I plasmatiques des souches $C_3H/He/Gif$ et $XLII$.

2°) - En génération $F1$ et $F2$, une activité intermédiaire de celle des souches parentales. De plus, on relève, en génération $F1$, une différence statistiquement significative entre d'une part les $F1_{(C_3H)}$

femelles et, d'autre part, les $F1_{(C_3H)}$ mâles et l'ensemble des $F1_{(XLII)}$; en outre, la génération $F2$ montre une dispersion importante dans une répartition homogène.

3°) - Une répartition homogène chez les back cross C_3H avec un retour très sensible de leur activité vers celle de la souche C_3H .

4°) - Une différence statistiquement significative entre les séries chez les back cross $XLII$; l'activité des back cross "remonte" vers celle de la souche parentale lorsque l'hybride $F1$ est issu de mère $XLII$, elle reste égale à celle de l'hybride $F1$ lorsque ce dernier provient d'une mère C_3H .

Les différences d'activité observées au cours de cette étude peuvent être dues :

- aux conditions extérieures ;
- à la présence d'effecteurs protéiniques génétiquement déterminés ou à des variations non spécifiques dans l'environnement sérique.

- à des variations qualitatives entre les souches dans la configuration moléculaire du (ou des) enzyme(s).
- à des variations quantitatives dans la production de l'enzyme.

Ces différents points sont étudiés dans la troisième partie de notre thèse.

1) - Conditions extérieures :

Il est exclu que les différences observées puissent provenir de l'âge des animaux ou de variations dans leurs conditions d'environnement susceptibles d'altérer l'expression phénotypique du génotype (70). L'activité ne varie pas avec l'âge entre deux et six mois or, les animaux utilisés ont un âge moyen d'environ trois mois les âges extrêmes étant compris entre deux et six mois ; de plus, toutes les souris sont soumises au même régime alimentaire, aux mêmes conditions climatiques et aux mêmes soins.

2) - Effecteurs protéiniques génétiquement conditionnés et variations non spécifiques dans l'environnement sérique :

Cette hypothèse semble exclue par la méthode de dosage utilisée où la dilution des plasmas est telle que toutes les différences initiales dans les concentrations ioniques ou protéiniques sont annulées. Par ailleurs, l'activité semble directement proportionnelle à la quantité de plasma utilisée ; de plus, l'activité du mélange à parties égales des plasmas de chaque souche est égale à la moyenne arithmétique de l'activité plasmatique de chacune des souches. La présence éventuelle d'effecteurs - inhibiteurs chez la C_3H , activateurs chez la XLII - ne semble donc pas interférer sur nos résultats.

3) - Variations qualitatives :

N'étant par parvenu à isoler ou même à purifier l'enzyme, nous étudions comparativement sur le plasma :

- le comportement électrophorétique de l'activité enzymatique sur gélose-DNA et sur gel d'amidon-DNA.

- son comportement chromatographique sur DEAE cellulose.

- l'activité DNasique I de chaque plasma en fonction d'un préchauffage à température variable pendant 30 minutes, du temps de dénaturation par chauffage à $52^{\circ}C$, du pH et de la concentration en ions Mn^{++} et Mg^{++} ; l'activité DNasique I du plasma étant ici évaluée par la méthode dite des "acido-solubles" de KUNITZ (72).

Toutes ces expérimentations montrent un comportement similaire de l'activité DNasique I plasmatique chez les deux souches :

- migration électrophorétique au même niveau des alpha-2-globulines.

- élution semblable par le tampon phosphate 0,15 M à pH = 5,8 à 6,0 après fixation sur colonne de DEAE cellulose.

- une augmentation semblable de l'activité après préchauffage des plasmas jusqu'à la température de 50°C, puis l'inactivation totale à la température de 60°C.

- un même temps de latence de huit heures avant que l'enzyme soit complètement inactivé par préchauffage à 52°C.

- dans les deux cas, une activité maximum lorsque le pH est compris entre 6,6 et 6,9 unités pH et une activation optimum en présence de 15 μM de Mg^{++} ou de 2 μM de Mn^{++}

Les conditions extérieures et la présence éventuelle d'effecteurs ne pouvant être considérées comme responsables des différences d'activité DNasique I du plasma chez les souches XLII et C_3H , et leurs hybrides, et, par ailleurs, la configuration moléculaire du (ou des) enzyme(s) pouvant être considérées comme semblables d'une souche à l'autre, ces différences sont vraisemblablement dues à des variations quantitatives entre les souches dans la production du (ou des) enzyme(s) indirectement contrôlé(s) par des gènes du type gène régulateur (59). De fait, les résultats génétiques obtenus - activité intermédiaire chez les hybrides F1 et F2, absence de ségrégation en F2, net retour de l'activité chez les back cross C_3H - montrent que l'activité DNasique I du plasma est sous le contrôle d'un système polygénique chez les souches XLII et C_3H .

Toutefois, les différences très significatives observées dans la génération F1, et chez les back cross XLII, font penser que, sur ce terrain génotypique, agirait un facteur cytoplasmique héréditaire dont l'action répressive ne serait liée qu'aux déterminants sexuels du génome XLII. Plusieurs séries d'expérimentations sont proposées pour confirmer cette hypothèse, celles-ci pouvant être menées de front avec l'étude de la transmission héréditaire du virus cytoplasmique de BITTNER, agent principal responsable du cancer mammaire de la souris (9).

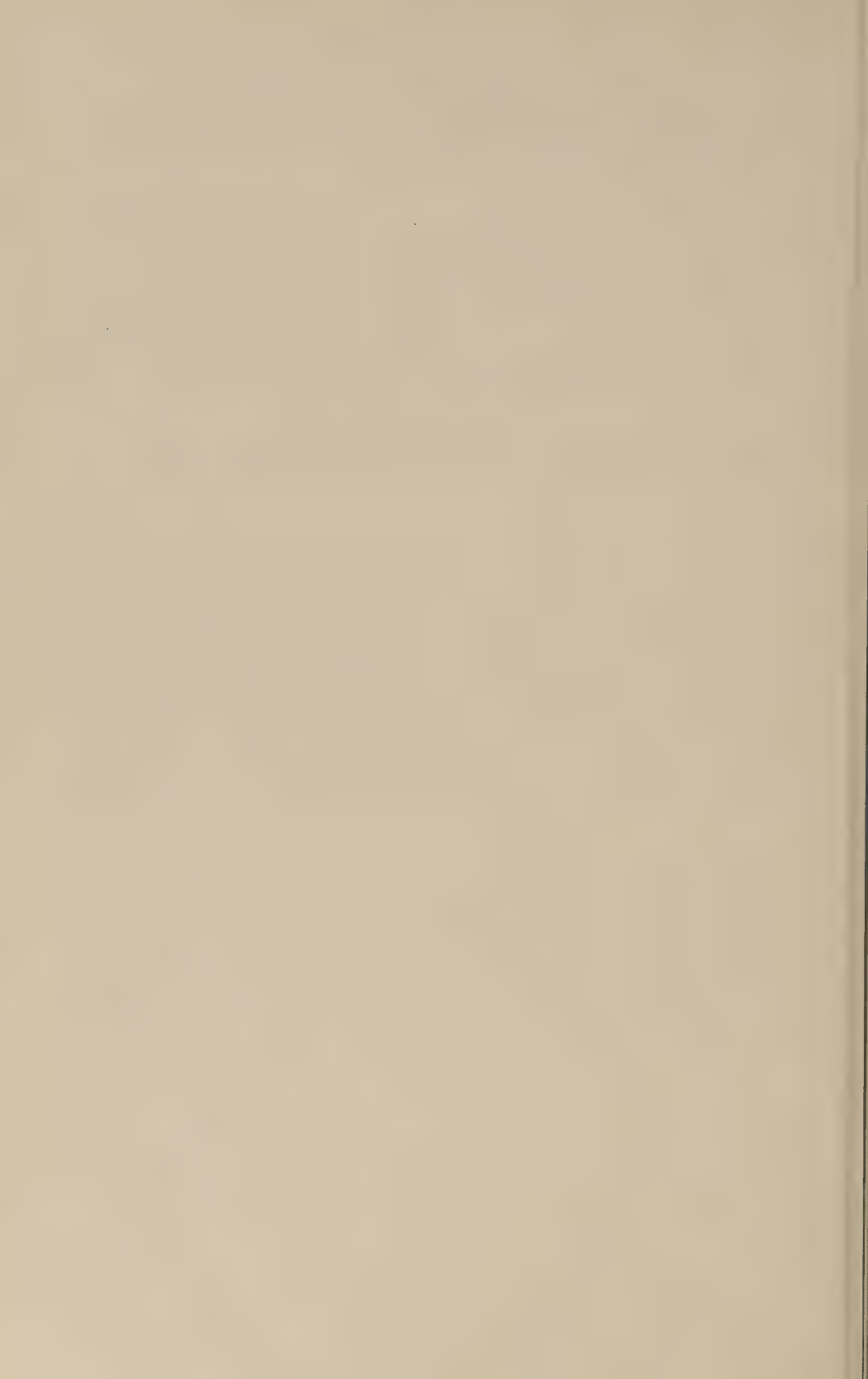
Vu, le Président de Thèse : Vu pour le Doyen de la Faculté :

Pr M. TRUHAUT,

Pr M. MALANGEAU.

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris

Jean ROCHE,



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALLFREY V.G., MIRSKY A.E.
Some aspects of the desoxyribonuclease activities of animal tissues
J. Gen. Physiol. 36 /227/1953
- 2 - ANDERVONT H.B., DUNN J.B.
Studies on the mammary tumor agent of strain R III mice
J. Nat. Cancer. Inst. 28/159/1962
- 3 - ARFORS K.E., BECKMAN L., LUNDIN L.G.
Genetic variations of human serum phosphatases.
Acta Genet. Statis. Med. 13 /89/1963
- 4 - AUBIN G., CHENAILLE P., LAMONTHEZIE N., PAOLETTI C.
Extraction de l'acide desoxyribonucléique de différents tissus par emploi de la Papaine.
Biochim. Biophys. Acta. 72 /456/1963
- 5 - AUGUSTINSSON K.B.
Multiple forms of esterase in vertebrate blood plasma
Ann. Acad. Sci. N.Y. 94 /844 /1961
- 6 - AUGUSTINSSON K.B., OLSSON B.
Esterases in the milk and blood plasma of swine : activities at different stages during the lactation and suckling periods, and plasma aryl esterase as a gene controlled enzyme.
Biochem. J. 71 / 484 /1959
- 7 - AUGUSTINSSON KB., OLSSON B.
A genetically determined enzyme in the pig.
Nature 187 /4741 /1960
- 8 - BAWDEN M.A.
Plant viruses and virus diseases
Chronica Botanica Co. Waltham, Mass (1950)

9 - BITTNER J.J.

Recent studies on the mouse mammary tumor agent.
Ann. Acad. Sci. N.Y. 68 / 636 / 1957

10 - BITTNER J.J.

Biological assay and serial passage of the mouse mammary tumor agent in mammary tumours from mothers and their hybrid progeny.

In : Ciba Foundation Symposium on Tumour Viruses of murine origin. p. 56 - J.A. CHURCHILL L.T.D. (London)

11 - BLANCHARDIERE (de la) P.

Über die Wirkung der Nuclease.
Z. Physiol. Chem. 87 / 291 / 1913

12 - BLACK L.M.

Viruses that reproduce in plants and insects.
Ann. Acad. Sci. N.Y., 56 / 398 / 1953

13 - BOHUON C.

Etude des désoxyribonucléases chez les mammifères supérieurs et de leurs variations sous l'influence de certaines agressions toxiques.

Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie - Paris 1961

14 - BOHUON C., LE TALAER J.Y.

Dosage de la désoxyribonucléase alcaline dans le sang.
Path. Biol. 8 / 2335 / 1960

15 - BOYER S.H., PORTER I.H., WEILBACHER R.G.

Electrophoretic heterogeneity of glucose - 6 - phosphate dehydrogenase and its relationship to enzyme deficiency in man.

Proc. Nat. Acad. Sci. 49 / 1868 / 1962

16 - BRANDT N.J., FRØLAND A., MIKKELSEN M., NIELSEN A. TOLSTRUP N.

Galactosemia locus and the Down's syndrome chromosome.
Lancet 2 / 700 / 1963

17 - BURTON K.

A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid.

Biochem. J. 62 / 315 / 1956

- 18 - CARTER C.E., GREENSTEIN J.P.
 Studies on the enzymatic degradation of nucleic acids.
 J. Nat. Cancer Inst. 7/29/1946
- 19 - CAVALIERI L.F., HATCH B.
 Studies on the structure of nucleic acids.
 VI - The kinetics of desoxyribonuclease action.
 J. Am. Chem. Soc. 75/1110/1953
- 20 - CHARGAFF E., SHAPIRO H.
 Remarks on deoxyribonuclease.
 Exp. Cell. Res. Suppl. 3 /64/1955
- 21 - CHILDS B., ZINKHAM W.H.
 The genetics of Primaquine sensitivity of the erythrocytes.
 In Biochemistry of human genetics - p. 76.
 Ciba foundation symposium. J. A. CHURCHILL (1959).
- 22 - CHITRE R.G., KHANOLKAR V.R.
 Studies in esterase (Butyric) activity - II - Esterase content
 of livers of mice and its excretion in strains susceptible or
 insusceptible to mammary cancer.
 Cancer Res. 3 /88/1943
- 23 - CLIFFTON E.E. - ELIOT D.W., NERO W.J.
 Observations on the antiproteolytic reaction of the serum of
 mice : Strain variations.
 Cancer Res. 9/422/1949
- 24 - COHEN S.L., BITTNER J.J.
 The effect of mammary tumors on the glucuronidase and
 esterase activities in a number of mouse strains.
 Cancer Res. 11/723/1951
- 25 - Comité on Standardized Genetic Nomenclature for Mice -
 Standardized nomenclature for inbred strains of mice
 - Second Listing.
 Cancer Res. 20/145/1960
- 26 - GRIGLER J.F., NAJJAR V.A.
 Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus
 Pediatrics 10/169/1952

27 - DEFRANCE P.

Dosage des impuretés ribonucléiques dans l'acide desoxyribonucléique. Intérêt en biochimie et en toxicologie.

Thèse de Doctorat d'Université en Pharmacie - Paris 1962

28 - DEFRANCE P., LE PECQ J.B.

Dosage colorimétrique des dérivés à base de désoxyribose et des acides désoxyribonucléiques.

Path. Biol. 9/2341/1961

29 - DEFRANCE P., De LESDAIN N.

Dosage colorimétrique des dérivés à base de ribose et des acides ribonucléiques (ARN) - Application à la dilution et au dosage de l'ARN/ et des impuretés à base de ribose dans les acides désoxyribonucléiques (ADN).

Path. Biol. 10/153/1962

30 - DONAHUE J.K., HOUCK J.C., COFFEY R.J.

Serum desoxyribonucléase activity and pancreatic damage.

Surgery 44/1070/1958

31 - DRY F.W.

The agouti coloration of the mouse (*Mus musculus*) and the rat (*Mus norvegicus*).

J. Genet. 20/131/1928

32 - DRYER R.L., TAMMES A.R., ROUTH J.I.

The determination of phosphorus and phosphatase with N phenyl-phénylène diamine.

J. Biol. Chem. 225/177/1957

33 - FALCONER D.S.

Breeding method : I - Genetic consideration.

In : the UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. Chap. VI, p.85.

Ed. Universities Federation for Animal Welfare 1957.

34 - FESTY B.

Les inhibiteurs de désoxyribonucléases. Intérêt biochimique et application à la toxicologie du Beryllium.

Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie - Paris 1964

35 - FIELD R.A.

Glycogen deposition diseases.

In: The metabolic basis of Inherited Diseases.

Mc Graw-Hill Book Company Inc. 1960

36 - FIGGE F.H.J., STRONG L.C.

Xanthine oxidase (dehydrogenase) activity in livers of mice of cancer susceptible and cancer resistant strains.

Cancer Res. 1/779/1941

37 - FRAJOLA W.J., RABATIN J.G., SMITH H.C.

A flow birefringence method for the determination of deoxyribonuclease activity.

Biochim. Biophys. Acta 19/540/1956

38 - GIBSON Q.H.

Reduction of methemoglobin in red blood cells and studies on the cause of idiopathic methemoglobinemia.

Biochem. J. 42/13/1948

39 - GOSSE C.

Les acides désoxyribonucléiques en tant que support de toxicité moléculaire - Etude sur leur catabolisme.

Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie - Paris 1963

40 - GOSSE C., DECHAMBRE R.P., GERARD-MARCHANT R., LACOUR F.

Sur quelques cas de tumeurs spontanées apparues chez des souris de souche XLII.

En préparation.

41 - GREENSTEIN J.P., ANDERVONT H.B.

The liver catalase activity of tumor bearing mice and the effect of spontaneous regression and of removal of certain tumors.

J. Nat. Cancer Inst. 2/345/1942

42 - GREENSTEIN J.P., CARTER C.E., CHALKLEY H.W., LEUTHARDT F.M.

Enzymatic desamination and dephosphorylation of ribonucleic and desoxyribonucleic acids.

J. Nat. Cancer Inst. 7/9/1946

43 - GREGOIRE J.

Sur l'activité de la désoxyribonucléase I - Titration spectrophotométrique des fonctions acides libérées au cours de la dégradation de l'acide désoxyribonucléique du thymus.
Bull. Soc. Chim. Biol. 34/284/1952

44 - GRUNEBERG H.

The genetics of the Mouse.
Ed. Margicus NIJHOFF (The HAGUE - Holland) - 1952

45 - GUY J.

Elements de calcul des probabilités et de calcul statistiques.
Ed. SEDES - 5 place de la Sorbonne Paris 5è - 1963

46 - HARRIS H.

Melanin formation and albinism.
In : Human Biochemical Genetics p. 63, Ed. Cambridge University Press 1959

47 - HENSTELL H.H. ; FREEDMAN R.I., BEN GINSBURG

An inhibitor of desoxyribonuclease in human white blood and bone marrow cells and its relationship to cellular maturity.
Cancer Res. 12/346/1952

48 - HERRIOTT R. M.

Infectious nucleic acids : a new dimension in virology
Science 134/256/1961

49 - HERRIOTT R. M., CONNOLLY J. H., GUPTA S.

Blood nucleases and infectious viral nucleic acids.
Nature 189/817/1961

50 - HOPKINSON D.A., SPENCER N., HARRIS H.

Red cell acid phosphatase variants : a new human polymorphism
Nature 199/969/1963

51 - HSIEN-GIEH SIE, FISHMAN W. H.

A comparative study of certain properties of liver beta-glucuronidase of inbred mice.
Cancer Res. 13/590/1953

52 - IBSEN H. L., STEIGLEDER E.

Evidence for the death in utero of the homozygous yellow mouse.

Amer. Nat. 51/740/1917.

53 - ILLINGWORTH B., CORI G. T.

Structure of glycogens and amilopectins - III. Normal and abnormal human glycogen.

J. Biol. Chem. 199:653/1952

54 - ILLINGWORTH B., CORI G. T., CORI C. F.

Amilo-1-6-Glucosidase in muscle tissue in generalized glycogen storage disease.

J. Biol. Chem. 218/123/1956

55 - INGRAM V. M.

Separation of the peptide chains of human globin.

Nature 183/1795/1959

56 - INGRAM V. M.

Gene evolution and the haemoglobins.

Nature 189/704/1961

57 - INGRAM V. M.

Haemoglobin F and the genetic control of protein structure.

Nature 191/608/1961

58 - INGRAM V. M.

The abnormal human haemoglobins.

Vème Internat. Congress Biochem. Moscou 198/1/1961

59 - JACOB F., MONOD J.

Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins.

J. Mol. Biol. 8/318/1961

60 - JERVIS G. A.

The genetic of phenylpyruvic oligophrenia.

J. Ment. Sci. 85/719/1939

61 - JERVIS G. A.

Genetic factor in mental deficiency.

Am. J. Human Genet. 4/260/1952

- 62 - JUNGNER G., JUNGNER J., ALLGREN L.G.

Molecular weight determination of thymonucleic acid compounds by electric measurements.
Nature 163/849/1949

- 63 - KALCKAR H.M.

Biochemical genetics as illustrated by hereditary galactosaemia.
In : Biochemistry of Human Genetics p23. Ciba Foundation Symposium J.A. CHURCHILL (1959).

- 64 - KALISS N.

The morphogenesis of pigment in the hair follicle of the house mouse.
J. Morph. 70/209/1942

- 65 - KALOW W.

Cholinestérase Types.
In : Biochemistry of Human Genetics p. 39, Ciba Foundation Symposium J.A. CHURCHILL (1959).

- 66 - KHANOLKAR V.R., CHITRE R.G.

Studies in esterase activity : I - Esterase content of serum of mice from certain cancer resistant and cancer susceptible strains.
Cancer Res. 2/567/1942

- 67 - KHANOLKAR V.R., CHITRE R.G.

Studies in esterase activity : III - The effect of foster nursing on the esterase content of blood serum and liver of strains of mice susceptible or insusceptible to mammary cancer.
Cancer Res. 4/128/1943

- 68 - KHOUVINE Y., GREGOIRE J.

Action de la désoxyribonucléase sur quelques acides désoxyribonucléiques.
C.R. Acad. Sci. 231/424/1950

- 69 - KIRKMAN H.N., RILEY H.D., CROWELL B.B.

Différent enzymic expression of mutants of human glucose-6-phosphate dehydrogénase.
Proc. Nat. Acad. Sci. 46/938/1960

70 - KRETCHMER N., SEIFTER S.

Some aspects of the quantitative expression of gene actions.
In : Molecular Genetics and Human Disease p.83, L. Y.
GARDNER Charles C. Thomas-Springfield Illinois (1961)

71 - KUNITZ M.

Isolation of crystalline desoxyribonuclease from beef pancreas.
Science 108/19/1948

72 - KUNITZ M.

Crystalline desoxyribonuclease. I. Isolation and general properties spectrophotometric method for the measurement of desoxyribonuclease activity.
J. Gen. Physiol. 33/349/1950

73 - KUNITZ. M.

Crystalline desoxyribonuclease. II - Digestion of thymus nucleic acid -D. N. A.)-. The kinetics of the reaction.
J. Gen. Physiol. 33/363/1950

74 - KURNICK N.B.

The determination of deoxyribonuclease activity by methyl green. Application to serum.
Arch. Biochem. 29/41/1950

75 - KURNICK N.B.

Deoxyribonuclease activity of sera of man and some other species.
Arch. Biochem. Biophys. 43/97/1953

76 - KURNICK N.B., FOSTER M.

Methyl Green ; III - Reaction with deoxyribonucleic acid, stoichiometry and behavior of the reaction product.
J. Gen. Physiol. 34/147/1950

77 - LA DUE B.N., ZANNONI V.G., LASTER L., SEEGMILLER J.E.

The nature of the defect in tyrosine metabolism in alcaptonuria.
J. Biol. Chem. 230/251/1958.

78 - LAMOTTE M.

Initiation aux méthodes statistiques en biologie.
Ed. Masson et Cie - 120, bd. Saint Germain-Paris - 1962

79 - LASKOWSKY M.

Crystalline protein with thymonucleodepolymerase activity isolated from beef pancreas.
J. Biol. Chem. 166/555/1946

80 - LASKOWSKY M.

Studies on thymonucleodepolymerase.
Arch. Biochem. 11/41/1956

81 - LAW' L. W., MORROW A. G., GREENSPAN E. M.

Inheritance of low liver glucuronidase activity in the mouse.
J. Nat. Cancer Inst. 12/909/1952

82 - LE PECQ J. B.

De la mesure des dimensions moléculaires des polymères biologiques et de sa signification. Application à l'étude physico-chimique et enzymatique de la complexation des acides nucléiques.
Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie - Paris 1963

83 - LE PECQ J. B., BOURGOIN D.

Etude théorique et expérimentale des conditions d'utilisation de la viscosimétrie pour la détermination de l'activité désoxyribonucléasique I.
Biochem. Biophys. Acta 80/173/1964.

84 - LE TALAER J. Y.

Recherches sur les mécanismes de défense enzymatique contre les acides désoxyribonucléiques considérés comme support de toxicité moléculaire.
Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie - Paris 1963

85 - LE TALAER J. Y., FESTY B.

Mesure de l'activité désoxyribonucléasique neutre par libération d'oligonucléotides solubles.
Path. Biol. 10/1413/1962

86 - LE TALAER J. Y., FESTY B., TRUHAUT R.

Mise en évidence et dosage semi-quantitatif des désoxyribonucléases neutres par une méthode de diffusion.
Clin. Chim. Acta 8/925/1963

87 - L'HERITIER P.

Les relations du virus héréditaire de la drosophile avec son hôte.

Ann. Inst. Pasteur 102/511/1962

88 - LOWRY D.H., ROSEBROUGH N.J., PARRAND A.L., RANDALL R.J.

Protein measurement with the Folin phenol reagent.

J. Biol. chem. 193/263/1951

89 - Mac CARTY M.C.

Purification and properties of deoxyribonuclease from beef pancreas.

J. Gen. Physiol. 29/123/1946

90 - Mac CARTY M.C.

The inhibition of streptococcal desoxyribonuclease by rabbit and human antisera

J. Exp. Med. 90/543/1949

91 - Mac DOWELL

The death of pure yellow mice.

Carnegie Inst. Wash. Year Book 29/60/1930

92 - MARGOLIS F., FEIGELSON P.

Purification and characterization of a genetically determined rabbit serum esterase.

J. Biol. Chem. 238/2620/1963

93 - MITOMA C., AULD R.M., UDENFRIEND S.

On the nature of enzymatic defect in phenylpyruvic oligophrenia

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 94/634/1957

94 - MORROW A.G., GREENSPAN E.M., CAROLL D.M.

Liver Glucuronidase activity of inbred mouse strains.

J. Nat. Cancer Inst. 10/ 657/1949

95 -MORROW A.G., GREENSPAN E.M., CAROLL D.M.

Comparative studies of liver glucuronidase activity in inbred mice.

J. Nat. Cancer Inst. 10/1199/1950

96 - OHANESSIAN, GUILLEMAIN A.

Etude génétique du virus héréditaire de la drosophile (σ)
 mutations et recombinaisons génétiques.
 Ann. Genet. 1/59/1959

97 - OME (De) K.B.

The mouse mammary tumor virus.
 Fed. Proc. 21/15/1962

98 - PAOLETTI C., TRUHAUT R.

Nucléoprotéines, acides nucléiques et nucléases des
 tissus animaux.
 In : Techniques de Laboratoire - LOISELEUR I, 2, p.1160
 Masson Ed. 1963

99 - PETERSON E.A., CHIAZZE E.A.

Some experimental factors in the gradient chromatography of serum proteins.
 Arch. Biochem. Biophys. 99/136/1962

100 - PETERSON E.A., SOBER H.A.

Chromatography of proteins : I - Cellulose in exchange adsorbants.
 J. Amer. Chem. Soc. 78/756/1956

101 - PLUS N.

Etude de la sensibilité héréditaire au CO_2 chez la Drosophile :
 I - Multiplication du virus et passage de la descendance
 après inoculation ou transmission héréditaire.
 Ann. Inst. Pasteur 88/347/1955

102 - RABATIN J.G., FRIEDLAND R., FRAJOLA W.J.

The determination of deoxyribonuclease activity with
 the optical ultracentrifuge.
 J. Biol. Chem. 203/23/1953

103 - RASH R.W.

The production of specific chromosome alterations with
 deoxyribonuclease.
 Exp. Cell. Res. 28/507/1962

104 - REICHMANN M.E.

A preliminary light scattering study of the enzymic degradation of deoxyribose nucleic acid.
 J. Physiol. Chem. 60/831/1956

105 - RILEY V.

Adaptation of orbital bleeding technic to rapid serial blood studies.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104/751/1960

106 - RIOU G.

Les désoxyribonucléases neutres du sérum sanguin chez les mammifères supérieurs. Aspects Biochimiques et Génétiques.

Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences - PARIS 1964

107 - RIOU G., PAOLETTI C.

Localisation and fractional determination of neutral deoxyribonuclease activity in cat serum.

Nature 199/697/1963

108 - RIOU G., PAOLETTI C., TRUHAUT R.

Fractionnement par électrophorèse sur gel d'amidon des protéines plasmatiques des différentes espèces animales.

Bull. Soc. Chim. Biol. 44/149/1962

109 - RIVIERE M.R., CHOUROULINKOV I., GUERIN M.

Premier cas de tumeur spontanée obtenue dans la souche XLII et transplantable par greffe.

Bull. Cancer 46/737/1959

110 - SANFORD B.H.

Genetic study of modified susceptibility to tumor transplants in reciprocal resistant back cross mice.

J. Nat. Cancer Inst. 31/169/1963

111 - SAWIN P.B., GLICK D.

Atropine esterase a genetically determined enzyme in the rabbit.

Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 29/55/1943

112 - SCHMID R., HAMMAKER L.

Hereditary absence of muscle phosphorylase (Mac Ardle's syndrome).

New England J. Med. 264/223/1961

113 - SCHUMAKER U.N., RICHARD E.G., SCHACHMAN H.K.

A study of the kinetics of the enzymatic digestion of deoxyribonucleic acid.

J. Am. Chem. Soc. 78/4230/1956

114 - SHAW C.R., BÁRTO E.

Genetic evidence for the subunit structure of lactase dehydrogenase isozymes.

Proc. Nat. Acad. Sci. 50/211/1963

115 - SHAW C.R., SYNER F.N., TASCHIAN R.E.

New genetically determined molecular form of erythrocyte esterase in man.

Science 138/31/1962

116 - SHIMKIN M.B., GREENSTEIN J.P.

Esterase activity of blood serum of four strains of mice.

J. Nat. Cancer Inst. 5/29/1944

117 - SLIZYNSKI B. M.

A preliminary pachytene chromosome map of the house mouse.

J. Genet. 49/242/1949

118 - SMITHIES O.

Zone electrophoresis in starch gels : group variations in the serum proteins of normal human adult.

Biochem. J. 61/629/1955

119 - SMITHIES O.

An improve procedure for starch gel electrophoresis : further variations in the serum proteins of normal individuals.

Biochem. J. 71/585/1959

120 - SOBER H.A., GUTTER J.F., WYCKOFF M., PETERSON E.A.

Chromatography of proteins : II - Fractionation of serum proteins on anion exchange.

J. Amer. Chem. Soc. 78/756/1956

121 - STANBURY J.B., Mac GIRRE M.

Sporadic or non endemic familial cretinism with goiter

Amer. J. Med. 22/712/1957

122 - TAKAHARA S.

Progressive oral gangrene probably due to lack of catalase in the blood (acatalasemia); report on nine cases.

Lancet 2/1101/1952

123 - TASHIAN R.E.

Multiple forms of esterases from human erythrocytes.
Proc Soc. Exp. Biol. Med. 108/364/1961

124 - THOMAS C.A.

The enzymatic degradation of desoxyribose nucleic acids.
J. Amer. Chem. Soc. 78/1864/1956

125 - THOMPSON R.H.S.

Classification and nomenclature of enzymes.
Science 137/405/1962

126 - TRUHAUT R., BOHUON C., LE TALAER J. Y.

Microdosage colorimétrique du phosphore : Applications
au dosage du phosphore nucléique ou au dosage du phosphore
minéral du sérum.
Ann. Biol. Clin. 10/859/1961

127 - TRUHAUT R., PAOLETTI C., RIOU G.

Sur la caractérisation par électrophorèse en gel d'amidon
de protéines plasmatiques génétiquement conditionnées et
ses applications en médecine légale.
Ann. Med. Légale 42/1/1962

128 - TUBA J.

Serum tributyrinase levels in mice of the C 57, C₃H, and A
strains.
Cancer Res. 12/113/1952

129 - U.A.R. - Fiche technique n°1

Aliments cuits pour Rat/souris.

130 - ZAMENHOFF S., CHARGAFF E.

Studies on the desoxypentose nuclease of yeast and its
specific cellular regulation.
J. Biol. Chem. 180/727/1949

131 - ZAMENHOFF S., ALEXANDER H.E., LEIDY G.

Studies on the chemistry of the transforming activity I - Re-
sistance to physical and chemical agents.
J. Exp. Med. 98/373/1953

132 - ZITTLE C.A.

Hydrolysis of ribonucleic acids with phosphoesterase from
calf intestinal mucosa.
J. Biol. Chem. 166/491/1946

LISTE ALPHABETIQUE DES TABLEAUX ET FIGURES

	<u>Pages</u>
- Activité DNasique du mélange à parties égales des plasmas de souris XLII et C_3H - Tableau n° 23. -	92
- Activité DNasique neutre du plasma des souris C_3H et XLII et leurs Hybrides F1, F2 et Back Cross.	43
- Parents Souche C_3H - Tableau n° 7 -	44
- Parents Souche XLII - Tableau n° 8 -	48
- Hybrides F1 issus de femelles C_3H - Tableau n° 9 -	52
- Hybrides F1 issus de femelle XLII - Tableau n° 10 -	54
- Hybrides F2 issus de femelle C_3H - Tableau n° 11 -	56
- Hybrides F2 issus de femelle XLII - Tableau n° 12 -	60
- Back Cross C_3H , retour au mâle - Tableau n° 13 -	62
- Back Cross C_3H , retour à la femelle - Tableau n° 14 -	64
- Back Cross XLII, retour au mâle - Tableau n° 15 -	66
- Back Cross XLII, retour à la femelle - Tableau n° 16 -	68
- Activité DNasique I Plasmatique des Souris XLII et C_3H	
- En fonction de l'âge - Tableau n° 22 -	90
- En fonction de la concentration en ions Mg^{++} et Mn^{++} - Figure n° 16. -	100 ₄
- En fonction de la couleur du pelage dans les générations F2 et Back Cross XLII - Tableau n° 19 -	78
- En fonction du pH	100 ₃

- pH = 5,9 à 7,5 - Tampon phosphate 0,033 M - Fig. n° 14.	100 ₃
- pH - 7 à 9 - Tampon Véronal 0,033 M - Fig. n° 15.	100 ₃
- En fonction d'un préchauffage de 30 minutes à des températures variables - Fig. n° 12 -	100 ₁
à 52°C pendant des temps variables - Fig. n° 13. -	100 ₂
- Caractéristiques analytiques du DNA utilisé pour la prépara- tion des réactifs de KURNICK - Tableau n° 4 -	20
- Chromatogramme et Répartition de l'Activité DNAsique neutre du plasma de souris XLII et C ₃ H - Fig. n° 11 -	06 ₃
- Dispositif chromatographique à gradient convexe - Fig. n° 1.	30.
- Distribution de l'Activité Désoxyribonucléasique I du plasma des souris C ₃ H et XLII et de leurs Hybrides F1, F2 et Back Cross	
- Souris C ₃ H Fig. n° 2	72 ₁
- Souris XLII Fig. n° 3	72 ₁
- Hybrides F1 Fig. n° 4	72 ₂
- Hybrides F2 Fig. n° 5	72 ₂
- Back Cross C ₃ H Fig. n° 6	72 ₃
- Back Cross XLII Fig. n° 7	72 ₃
- Récapitulation de l'ensemble Fig n° 8.	82.
- Exemple des calculs statistiques pour l'évaluation du test d'Homogénéité de plusieurs échantillons - Tableau n° 6 -	36.
- Fidélité de la Microméthode - Tableau n° 5 -	25
- Fractionnement sur Gélose et sur Gélose DNA des plasmas de souris C ₃ H et XLII et de rat - Wistar - Fig. n° 10 -	96 ₂
- Fractionnement uni et bi dimensionnel par électrophorèse sur gel d'amidon des plasmas de souche XLII et C ₃ H - Fig. n° 9 -	96 ₁

- Moyennes et Variations de l'activité désoxyribonucléasique I du plasma des souris C_3H et XLII, de leurs hybrides F1, F2 et Back Cross - Tableau n° 17 -	70.
- Poids moyens des souris C_3H et XLII et de leurs hybrides F1, F2 et Back Cross à l'âge de 70 à 80 jours - Tableau n° 2.	7
- Quelques enzymes génétiquement conditionnés chez les mam- mifères supérieurs - Tableau n° 1 -	2.
- Répartition de la couleur du pelage dans les générations F2 et Back Cross XLII - Tableau n° 18 -	76
- Résumé des croisements effectués - Tableau n° 3 -	9
- Répartition des chromosomes sexuels et du facteur cytoplasmique	
- au cours des croisements successifs - Tableau n° 20 -	84 ₁
- pour les croisements prévus - Tableau n° 21.	84 ₂

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
Liste des principaux symboles et abréviations utilisés dans le texte	XI
- Introduction	1
- <u>Première Partie : Les Techniques</u>	
- CHAPITRE I : Techniques Génétiques	5
- Choix des Animaux	5
- Définition des Souches Parentales	5
- Croisements effectués	8
- Identité des Animaux	12
- Traitement des Animaux	13
- CHAPITRE II : Méthodes de détermination de l'Activité Désoxyribonucléa- sique neutre	15
- Les Différentes Méthodes	15
- Méthodes reposant sur le Dosage des Produits de dégradation dialysables ou acido-solubles - Méthode des acido-solubles de KUNITZ	16
- Méthodes mesurant les changements dans l'affinité du DNA pour certaines molécules	18
- Principe général	18
- Méthode au Vert de Méthyle de N. B. KURNICK	18
- Microtechnique par Diffusion sur Gélose-DNA	24
- Technique de prélèvement du sang	26

- CHAPITRE III	: Méthodes d'Evaluation des propriétés Biochimiques et Enzymologiques comparées des DNases I. Plasmatiques.....	27
- Généralités.....		27
- Electrophorèse		27
- Chromatographie.....		29
- Techniques utilisées pour l'étude comparative de certaines constantes de l'Activité DNasique I du plasma des souches XLII et C ₃ H.....		30
- CHAPITRE IV	: Interprétation Statistique	33
- Les paramètres d'une Distribution de Fréquences.....		33
- Tests d'Homogénéité de deux échantillons.....		35
- Test d'Homogénéité d'un ensemble d'échantillons		36
- Test de Conformité : Critère du χ^2		37
- <u>Deuxième Partie</u> :	Etude Génétique de l'Activité Désoxy-ribonucléasique neutre du plasma des Souches C ₃ H et XLII et de leurs Hybrides F1, F2 et Back Cross	
- Introduction.....		39
- CHAPITRE I	: Valeurs Expérimentales.....	41
- CHAPITRE II	: Représentations Graphiques	71
- CHAPITRE III	: Remarques sur le Conditionnement Génétique de la couleur du pelage chez les souris de souches XLII et C ₃ H.....	75
- Introduction		75
- Transmission de la couleur du Pelage dans les croisements des souches XLII et C ₃ H.....		75
- Rapport éventuel des gènes de couleur avec l'activité DNasique neutre du plasma.....		77
- CHAPITRE IV	: Discussion et Conclusion	81
- <u>Troisième Partie</u> :	Etude Biochimique Comparée des DNases I plasmatiques des Souris XLII et C ₃ H.	
- Introduction.....		87

- CHAPITRE I : Influence de l'Environnement.....	89
- Définition de l'Environnement	89
- L'environnement externe	89
- L'environnement interne.....	91
- Conclusion	93
- CHAPITRE II : Etude Electrophorétique et Chromatographique comparée des DNAs plasmatiques des souris XLII et C ₃ H.....	95
- Electrophorèse	95
- Fractionnement sur Gel d'Amidon	95
- Fractionnement sur Gélose	95
- Chromatographie.....	96
- CHAPITRE III : Etude comparative de Certaines Constantes de l'Activité DNasique I du Plasma des souches XLII et C ₃ H.....	99
- Dénaturation Thermique	99
- Activité en Fonction du pH	100
- Activité en fonction de la concentration en ions Mg ⁺⁺ et Mn ⁺⁺	100
- CHAPITRE IV : Discussion et Conclusion	103
- CONCLUSION	105
- BIBLIOGRAPHIE	I
- Liste alphabétique des Tableaux et Figures.....	XVI
- Table des Matières.....	XIX

